

T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ATEŞ DİKENİ (*Pyracantha coccinea* Roemer) MEYVELERİNDEN DEMİR
NANOPARTİKÜLLERİNİN SENTEZİ, ANTİOKSİDAN VE
ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS

Volkan KARAKULLUKÇU

OCAK-2023
GÜMÜŞHANE



T.C.

GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ATEŞ DİKENİ (*Pyracantha coccinea* Roemer) MEYVELERİNDEN DEMİR
NANOPARTİKÜLLERİNİN SENTEZİ, ANTİOKSİDAN VE
ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

SYNTHESIS OF IRON NANOPARTICLES FROM FIRETHORN (*Pyracantha
coccinea* Roemer) FRUITS AND INVESTIGATION OF THEIR ANTIOXIDANT
AND ANTIMICROBIAL EFFECTS

YÜKSEK LİSANS

Volkan KARAKULLUKÇU

OCAK-2023
GÜMÜŞHANE



T.C.

GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ATEŞ DİKENİ (*Pyracantha coccinea* Roemer) MEYVELERİNDEN DEMİR
NANOPARTİKÜLLERİNİN SENTEZİ, ANTİOKSİDAN VE
ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

SYNTHESIS OF IRON NANOPARTICLES FROM FIRETHORN (*Pyracantha
coccinea* Roemer) FRUITS AND INVESTIGATION OF THEIR ANTIOXIDANT
AND ANTIMICROBIAL EFFECTS

YÜKSEK LİSANS

Volkan KARAKULLUKÇU

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Bülent AKAR

OCAK-2023
GÜMÜŞHANE

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlamış olduğum “**Ateş Diken (Pyracantha coccinea Roemer) Meyvelerinden Demir Nanopartiküllerinin Sentezi, Antioksidan ve Antimikrobiyal Etkilerinin İncelenmesi**” isimli bu tezimin, tamamen kendi çalışmam olduğunu, her alıntıya kaynak gösterdiğimi, alıntı yaptığım tüm çalışmalarını kaynakçada belirttiğimi ve Gümüşhane Üniversitesi'nin lisanslı kullanıcısı olduğum intihal yazılım programı ile Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nün belirlediği kıstaslara uygun olarak raporladığımı taahhüt ederim. Tezimin kâğıt ve elektronik kopyalarının Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü arşivinde saklanmasına izin verdiğimi onaylarım.

Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim.

18/01/2023

.....
Volkan KARAKULLUKÇU

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyip, karşılaştığım zorluklarda bana yardımcı olan sayın hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Bülent AKAR'a tezime ve gelecekteki hayatıma sunduğu katkılarından dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Deneyisel çalışmalarda yardımlarının esirgemeyen çok saygıdeğer hocam Sayın Doç. Dr. Cemalettin BALTACI'ya ve teşekkürlerimi sunarım. Mikrobiyal analizlerin gerçekleştirilmesinde yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer hocam Doç. Dr. Azer ÖZAD DÜZGÜN'e teşekkürlerimi sunarım. Verilerin değerlendirilmesine katkı sağlayan Arş. Gör. Ömer KARPUZ'a teşekkür ederim.

Yine iş hayatımda olduğu gibi çalışmalarım sırasında da bana yardımcı olan Evren Evrim ÖZDEMİR, Yusuf RAKAN, ve İlyas Taner DEMİREL'e yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Tüm çalışmalarım süresince maddi ve manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman anlayışlı ve hoşgörülü davranışlarıyla yanımda olan babam Ayhan KARAKULLUKÇU'ya, annem Kıymet KARAKULLUKÇU'ya, kardeşlerim Oltan KARAKULLUKÇU'ya, Sultan KARAKULLUKÇU'ya eşim Nagihan KARAKULLUKÇU'ya teşekkürlerimi sunarım.

Volkan KARAKULLUKÇU

GÜMÜŞHANE – 2023

ÖZET

Bitkisel ekstraktlardan yeşil sentezle üretilen metal ve metal oksit nanopartiküller biyolojik aktivite gösterme yönünden önemli bir potansiyele sahiptir. Bu çalışmada Gümüşhane Üniversitesi kampüsünde peyzaj amaçlı olarak yetiştirilmiş Ateş dikenini (*Pyracantha coccinea*) bitkisi meyvelerinin (tohumları ile birlikte) ekstraktlarından demir nanopartikülü sentezlenerek hem ekstraktların hem de sentezlenen demir nanopartiküllerinin antioksidan aktivite ve antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Sentezlenen Fe-NP'ler, Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), ve X-Işını Kırınımı (XRD) kullanılarak karakterize edilmiştir.

Meyve ekstraktı ve Fe-NP'lerin antioksidan aktivite etkinlikleri ABTS^{•+} süpürücü etki tayini, DPPH serbest radikal temizleme aktivitesi tayini, demir indirgeyici antioksidan güç (FRAP), toplam fenolik madde içeriği (TPC), toplam flavonoid içerik (TFC) ve toplam antioksidan içerik (TAC), gibi antioksidan aktivite testleri kullanılarak belirlenmiştir. Demir nanopartikülleri antioksidan aktivite değerleri tüm aktivite belirleme yöntemlerinde ekstraktların aktivite değerlerinden daha yüksek ölçülmüştür.

Meyve ekstraktı ve nanopartiküllerin antibakteriyel aktiviteleri gram negatif (*Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* ATCC 13315 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC43288,) ve gram pozitif (*Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Bacillus subtilis* ATCC 6633) bakterilere karşı minimum inhibitör konsantrasyonu (MIK), sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Antioksidan aktivite de olduğu gibi Fe-NP'ler meyve ekstraktlarına göre daha yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal, Antioksidan, Ateş dikenini, Demir nanopartikül, *Pyracantha coccinea*

SUMMARY

Metal and metal oxide nanoparticles produced from plant extracts through green syntheses have a significant potential to show biological activity. In this study, iron nanoparticles were synthesized from the extracts (together with the seeds) of the fruits of the Fire Thorn (*Pyracantha coccinea*) plant, grown for landscaping purposes on the campus of Gumushane University. Antioxidant activity and antimicrobial activities were investigated for both extracts and iron nanoparticles.

The characterization of the synthesized Fe-NPs was done using Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR), Scanning Electron Microscope (SEM), and X-Ray Diffraction (XRD).

The antioxidant activity efficacy of fruit extract and Fe-NPs was analyzed using antioxidant activity tests such as ABTS^{•+} scavenging effect determination, DPPH free radical scavenging activity determination, iron-reducing antioxidant power (FRAP), total antioxidant content (TAC), total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC). All of the antioxidant activity values of iron nanoparticles were higher than the activity values of the extracts.

The minimum inhibitory concentration (MIC) of fruit extract and nanoparticles against gram-negative (*Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* ATCC 13315 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC43288,) and gram-positive (*Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Bacillus subtilis* ATCC 6633) bacteria was determined using liquid microdilution method to evaluate the antibacterial performance of the nanoparticles. As with antioxidant activity, Fe-NPs showed higher antimicrobial activity than fruit extracts.

Keywords: Antimicrobial, Antioxidant, Fire Thorn, Iron nanoparticle, *Pyracantha coccinea*

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	III
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI.....	IV
TEŞEKKÜR.....	V
ÖZET	VI
SUMMARY	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
TABLolar DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XII
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş	1
1.2. Ateş Dikeni (<i>Pyracantha coccinea</i>).....	2
1.3. Nanopartikül	4
1.3.2. Nanopartiküllerin Üretim Yöntemleri	5
1.3.2.1. Yukarıdan Aşağıya (Top Down) Yaklaşımı	6
1.3.2.2. Aşağıdan yukarıya (Bottom-Up) Yaklaşımı	6
1.4. Antioksidan Aktivite.....	7
1.4.1. Nanopartikülleri Antioksidan Aktiviteleri	9
1.5. Antimikrobiyal Aktivite.....	10
1.5.1. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri	10
1.5.2. Nanopartikülleri Antimikrobiyal Aktiviteleri	11
1.6. Çalışmanın Amacı.....	11
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	12
2.1. Numunelerin Toplanması	12
2.2. Ateş Dikeni Ekstraktlarının Hazırlanması	12
2.3. Demir Nanopartiküllerin Hazırlanması	13
2.3.1. Metal Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	14
2.3.1.1. Demir Nanopartikülleri Karakterizasyonu.....	14
2.3.1.2. Fourier-Transform İnfrared (FTIR) Spektrofotometre Analizi	14
2.3.1.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX) Analizi.....	14
2.3.1.4. X-Işınları Kırınım Kristalografisi (XRD) Analizleri	14

2.4. Antioksidan Aktivite Tayini	14
2.4.1. ABTS ^{•+} Süpürücü Etki Tayini.....	14
2.4.2. DPPH Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi Tayini.....	15
2.4.3. Demir İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP).....	16
2.4.4. Toplam Antioksidan Madde İçeriği	17
2.4.5. Toplam Fenolik İçeriği	18
2.4.6. Toplam Flavonoid Madde İçeriği	19
2.5. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	20
2.5.1. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi İle Ateş dikenin Meyve Ekstraktının ve Fe-NP'lerin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonlarının Belirlenmesi.....	20
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	21
3.1. Ateş Dikeni Meyvesinden Sentezlenen Demir Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	21
3.1.1. Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi.....	21
3.1.2. Demir Nanopartiküllerin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX) Analizi	23
3.1.3. X-Işınları Kırınım Kristalografisi (XRD) Analizleri	27
3.2. Antioksidan Aktivite Tayini	28
3.3. Antimikrobiyal Aktivite.....	33
4. SONUÇ VE DEĞERLENDİRME.....	39
KAYNAKÇA.....	40
ÖZGEÇMİŞ	53

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Antioksidan aktivite belirleme yöntemleri.	9
Tablo 2. Ateş dikenli bitkisi meyvelerinde elde edilen Fe-NP'lerin EDX element değerleri	24
Tablo 3. Ateş dikenli bitkisinin su ekstraktının ve demir nanopartiküllerinin antioksidan kapasiteleri	29
Tablo 4. Ateş dikenli ekstraktı ve Fe-NP'lerin antimikrobiyal aktivitesi	36



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Ateş diken (Pyracantha coccinea) bitkisinin genel görünümü	3
Şekil 2. Pyracantha coccinea türünün Türkiye’deki dağılımı	4
Şekil 3. Nanopartiküllerin sentez yöntemleri	6
Şekil 4. Nanopartiküllerin aşağıdan-yukarı ve yukarıdan-aşağı sentez yöntemleri.....	7
Şekil 5. Antioksidanların sınıflandırılması	8
Şekil 6. Kurutulmuş Ateş diken bitki meyveleri.	12
Şekil 7. Ateş diken bitki meyvelerinden sentezlenen Fe-NP’ler.	13
Şekil 8. ABTS ^{•+} Radikal katyonu süpürücü etki tayini kalibrasyon eğrisi	15
Şekil 9. DPPH serbest radikal temizleme aktivite analizi kalibrasyon eğrisi	16
Şekil 10. FRAP antioksidan kapasitesi kalibrasyon eğrisi	17
Şekil 11. Toplam antioksidan analizi kalibrasyon eğrisi	18
Şekil 12. Toplam fenolik madde analizi kalibrasyon eğrisi.....	19
Şekil 13. Toplam flavonoid madde içeriği kalibrasyon eğrisi	19
Şekil 14. Ateş diken bitkisi meyve ekstraktı ve Fe-NP’lerin FTIR spektrumu	22
Şekil 15. Ateş diken bitkisi meyve Fe-NP’lerinin FTIR analizi.....	22
Şekil 16. Ateş diken bitkisi meyve ekstraktının FTIR analizi	23
Şekil 17. Ateş diken bitkisi meyvelerinde elde edilen Fe-NP’lerin EDX spektrumları	24
Şekil 18. Ateş diken meyvesinden sentezlene Fe-NP’lerin 50.000X ve 80.000X büyütmede SEM görüntüleri.	25
Şekil 19. Ateş diken meyvesinden sentezlene Fe-NP’lerin 80.000 büyütmede SEM görüntüleri.	26
Şekil 20. Ateş diken bitkisi meyvelerinden sentezlenen Fe-NP’lerin XRD analizi	27
Şekil 21. Ateş diken bitkisi meyvelerinden sentezlenen Fe-NP’lerin XRD analizi	28

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	: Süpürücü etki tayini
CO ₂	:Karbondiyoksit
dk	:Dakika
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH	: Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi
EDX	: Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (Energy-Dispersive X-Ray Spectroscopy)
Fe ₃ O ₄	:Demiroksit
Fe-Np	:Demir Nanopartikül
FRAP	:Demir İndirgeyici Antioksidan Güç
FTIR	:Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (Fourier Transform Infrared)
g	:Gram
L:	Litre
mL	:Mililitre
nm	:Nanometre
NP	:Nanopartikül
°C	:Celsius Derece
PFRAP	:Potasyum Ferrisiyanür İndirgemesi
Rpm	:Dakika Devir Dayısı
SEM	:Taramalı Elektron Mikroskobu
TAC	:Toplam Antioksidan Madde
TEM	:Transmisyon Elektron Mikroskobu
TFC	:Toplam Flavonoid Madde
TPC	:Toplam Fenolik Madde
XRD	: X-Işınları Kırınım Kristalografisi
µL	: Mikrolitre

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Organizmalar yaşamlarını devam ettirebilmeleri için olumsuz biyotik ve abiyotik çevresel faktörlere karşı bir takım önlemler alırlar. Hayvanlar etraflarında meydana gelen avcısından kaçma, soğuktan ve sıcaktan sakınma, ışık kaynağından uzaklaşma ya da ışık kaynağına doğru yönelme gibi durumlarda özellikle hareket edebilme yeteneklerini kullanırlar. Bitkiler ise harekete edemediklerinden dolayı bu biyotik ve abiyotik stres tehditlerinin üstesinden gelmek için çeşitli mekanizmalar geliştirmişlerdir. Dış ortamda çevresel değişimlere bağlı olarak bitkiler için stres koşulları olduğu takdirde bitkiler bu stres koşullarını algılar ve ardından uygun hücrel tepkiler vererek yaşamını devam ettirme çabası içerisine girerler (Gull vd., 2019). Bu hücrel tepkilerin sonucunda çevresinde oluşan stres koşullarının bitki üzerindeki olumsuz etkilerinin en aza indirilmesini sağlayan sekonder metabolit olarak adlandırılan bileşikler üretilir. Bu bileşikler belirtildiği üzere genellikle bitkilerin etrafındaki biyotik veya abiyotik streslere karşı bitkinin korunmasında rol oynamaktadırlar. Sekonder metabolitler, oluşan streslere tepki olarak yüksek oranda indüklenebilirler (Pagare vd., 2015; Isah, 2019). Bitkilerin çevresel değişimlere karşı yaşamsal adaptasyon göstermeleri yönünde katkı oluşturan sekonder metabolitler aynı zamanda ekonomik olarak oldukça değerlidirler. Çünkü bunlar ilaç endüstrisinde, gıdalarda aroma oluşturuucu, kozmetikte koku, böcek öldürücü vb. gibi yüksek değerli kimyasallar olarak kullanılırlar (Thirumurugan vd., 2018). Sekonder metabolitler terpenoidler, alkaloidler ve fenoliklerden oluşur. Glikozitler, tanenler ve saponinler, spesifik yapılarına göre bunların bir parçasıdır (Paiva vd., 2010; Kabera vd., 2014). Bu ikincil metabolitler, antimalaryal, anthelmintik, anti-inflamatuar, analjezik, antimikrobiyal, antiarteritik, antioksidan, antidiyabetik, antihipertansif, antikanser, antifungal, antispazmodik, kardiyop koruyucu, ve antihistaminik özelliklere sahiptir (Zehra vd., 2019). Bu bileşiklerin bu derece önemli olmaları bileşiklerin ana kaynağı olan bitkilerin de önemini insan sağlığı açısından o derecede artırmaktadır. Bitkiler üzerine yapılan çalışmalarda bu bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi daha çok antioksidan ve antimikrobiyal aktivite belirleme çalışmaları yönünde yoğunlaşmıştır. Bitkilerden elde edilen sekonder metabolitleri içeren ekstraktların biyolojik aktivite etkilerini daha da artırmak için yeni metotlar geliştirilmesi yönündeki çalışmalara her geçen gün yenileri eklenmektedir. Bunlardan birisi nanoteknolojide bitkiler kullanılarak

nanopartikül üretimidir. Nanoteknoloji, çeşitli uygulamalarda kullanılabilecek belirli özelliklere sahip materyaller oluşturmak için maddenin kimyasal ve/veya fiziksel işlemler yoluyla manipülasyonu olarak tanımlanabilir (Herlekar vd., 2014). Kimyasal ve fiziksel yöntemler ile başarılı bir şekilde iyi tanımlanmış nanoparçacıklar üretilirse de, bunların üretimi oldukça pahalıdır. Ayrıca potansiyel çevre kirleticileridir (Pattanayak ve Nayak, 2013; Gottimukkala vd., 2017). Mikroorganizma ve bitki biyokütlesi gibi biyolojik yapılar ile nanopartikül sentezi kimyasal ve fiziksel yöntemlere hem ekonomik açıdan, hem de çevre kirliliğinin önlenmesi yönünden alternatif oluşturmaktadır (Pattanayak ve Nayak, 2013). Bununla birlikte biyolojik objeler kullanılarak nanopartiküllerin sentezi, sıra dışı optik, kimyasal, foto elektrokimyasal ve elektronik özelliklerinden dolayı büyük ilgi görmektedir. Tüm bu belirtilen özelliklere dayalı olarak nanopartikül sentezi ile bakterilerden mantarlara ve hatta bitkilere kadar uzanan organizmaları içeren temiz, toksik olmayan ve çevresel olarak kabul edilebilir “yeşil sentez” prosedürlerinin geliştirilmesine fayda sağlayacaktır (Mohanpuria vd., 2008). Metalik nanopartiküllerin yeşil sentezi bir redoks reaksiyonudur ve onlar proteinler, karbohidratlar, organik asitler, fenoller ve diğer metabolitler gibi hücresel veya hücre dışı bileşenlerin indirgeme kapasitesi nedeniyle oluşur. Bu bileşikler tek bir metabolit veya bunların bir grubu olmakla birlikte metallerin katyonlarına elektronları katarak onları sıfır yüklü ve nanometrik ölçekte metalik bir form haline getirirler (Vitta vd., 2020). Reaksiyon genellikle oda sıcaklığında herhangi bir basınç değişikliğine maruz bırakılmadan kendiliğinden meydana gelir. Reaksiyon hızlıdır ve genellikle birkaç dakika içinde tamamlanır. Sonuçta bitki ekstraktındaki fitokimyasallar, demir iyonlarını basit bir şekilde demir nanopartiküllerine dönüştürür (Ebrahiminezhad vd., 2018). Bu çalışmada kullanılacak olan Rosaceae familyasına ait ateş dikenini bitkisi (*Pyracantha coccinea* Roem.) çalı formunda genellikle Güney ve Güneydoğu Avrupa, İtalya, Balkanlar, Kırım, Kafkaslar ve Türkiye’de doğal olarak yayılış gösteren (Tunç vd., 2020) ve ayrıca süs bitkisi kullanım amaçlı kültürü yapılan bir bitkidir (Fico vd., 2000). Bu bitkinin meyveleri geleneksel tıpta idrar söktürücü, kalp hastalıklarını tedavisinde kullanılmakla birlikte tonik özelliklere sahiptir (Tunç vd., 2020).

1.2. Ateş Dikeni (*Pyracantha coccinea*)

Rosaceae familyası içerisinde yer alan *Pyracantha* cinsi 11 tür ve 6 interspesifik takson ve yaklaşık 350 kültivar ile temsil edilmektedir (Kopylova, 2019). Bu cins içerisinde yer alan *Pyracantha coccinea* (Şekil 1) çok yıllık, çalı formunda her dem yeşil bir bitki türüdür. Bitki 3 m yüksekliğe kadar çalı; genç dallar gri tüylü; dikenler yapraksız. Yapraklar mızraksı, eliptik veya obovat-eliptik, $2-4(-5) \times 1-1,5(-2)$ cm, krenat-serrat,

altta tüylü, özellikle gençken veya tamamen tüysüz; yaprak sapları 5–10 mm. korimb çok çiçekli. 8 mm çapa kadar çiçekler; çiçek sapları 5 mm. Meyve küremsi, 5–7 mm çapında, kırmızı veya ara sıra sarı veya turuncu (URL 1). Bitki coğrafik olarak dünyada Türkiye ile birlikte Avrupa, Kırım, Kafkasya ve İran'da dağılım göstermektedir. Türkiye'de ise bitki Bolu, İstanbul, Bartın, Ankara, Artvin, Bursa, Hatay, İçel, Konya, Sinop, Tekirdağ, Tokat, Trabzon illerinde yayılış göstermektedir (Şekil 2). Seyrek ormanlar ve çalılıklar kalkerli yamaçlar, kumluk alanlarda, 30-1800 metre rakımlarda yetişmektedirler. Bitkinin çiçeklenme zamanı Nisan-Haziran arasındır (Tübives, 2022).



Şekil 1. Ateş diken (Pyracantha coccinea) bitkisinin genel görünümü

Pyracantha cinsi ülkemizde iki tür (*Pyracantha coccinea*, *Pyracantha angustifolia* (Franch.) C.K.Schneid.) ile temsil edilmektedir (Bizimbitkiler, 2022). Türün sınıflandırılması aşağıda verilmiştir (Bizimbitkiler, 2022):

Alem: Plantae / Bitkiler

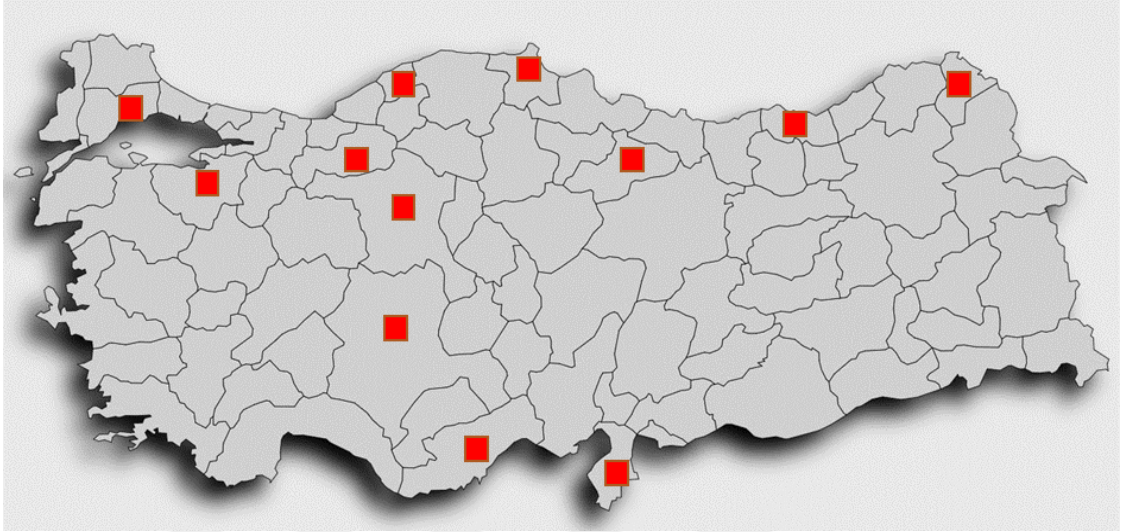
Bölüm: Magnoliophyta / Tohumlu bitkiler

Altsınıf: Magnoliidae / Manolya

Familiya: Rosaceae / Gülgiller

Cins: *Pyracantha* / ateşdiken

Tür: *Pyracantha coccinea* M.Roem./ ateşdiken



Şekil 2. *Pyracantha coccinea* türünün Türkiye’deki dağılımı (Tübives, 2022)

Ateş diken bitkisini meyveleri gıda (reçel, marmelat jöle ve sos) olarak kullanımlarının yanı sıra hastalıklarının tedavisinde ve önlenmesinde geleneksel olarak kullanımları mevcuttur (Gül ve Altıntaş, 2021).

1.3. Nanopartikül

Nanopartiküller büyüklük olarak 1 ila 100 nanometre arasında değişen boyutlara sahip maddeler olarak tanımlanır (Eren ve Baran, 2019). Nano boyuttaki bu malzemelerin kullanım alanları oldukça geniştir. Nanopartiküller demir, altın, çinko, gümüş, nikel, bakır, paladyum gibi metaller kullanılarak oluşturulurken biyomedikal, kataliz, gıda, giyim, kozmetik endüstrisi ve elektronik, ilaç sanayiinde, gıda endüstrisinde, tekstilde, optikte, tarımda ve atık suların biyoremediasyonunda oldukça yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Ateş ve Bahçeci, 2015; Baran, 2019; Eren ve Baran, 2019). Farklı yöntemler kullanılarak nanopartiküllerin sentezi yapılmaktadır. Bu yöntemler fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerdir. Bununla birlikte, toksik kimyasallar içermeleri ve pahalı olmaları nedenleri ile kimyasal ve fiziksel yöntemlerin kullanımları dezavantaj oluşturur (Baran, 2019). Güvenli, ucuz, ve çevre dostu bir yöntem olarak değerlendirilen biyolojik sentez bu özellikleri sayesinde daha fazla tercih edilmektedir (Çiftçi vd., 2021). Biyolojik sentezlemede bakterilerden, mantarlardan, alglerde ve tohumlu bitkilerden yararlanılır

(Umaz vd., 2019). Nanopartiküllerin sentez edilmesinde uygulanan yeşil sentez yöntemine olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır (Eren ve Baran, 2019).

1.3.1. Bitkisel Nanopartikül Sentezi ve Yeşil Nanoteknoloji

Uzun süredir nanopartiküllerin sentezi için kullanılan kimyasal ve fiziksel yöntemler ile kısa sürede istenilen nitelikler sahip nano ölçekte partiküller üretiliyor olmasına rağmen bu yöntemlerin oluşturdukları toksistenin fazla olması, stabiletilerinin kararlı olmaması ve maliyetin yüksek olması nanopartiküllerin biyosentez yoluyla üretimini ön plana çıkarmıştır (Beykaya ve Çağlar, 2016)..

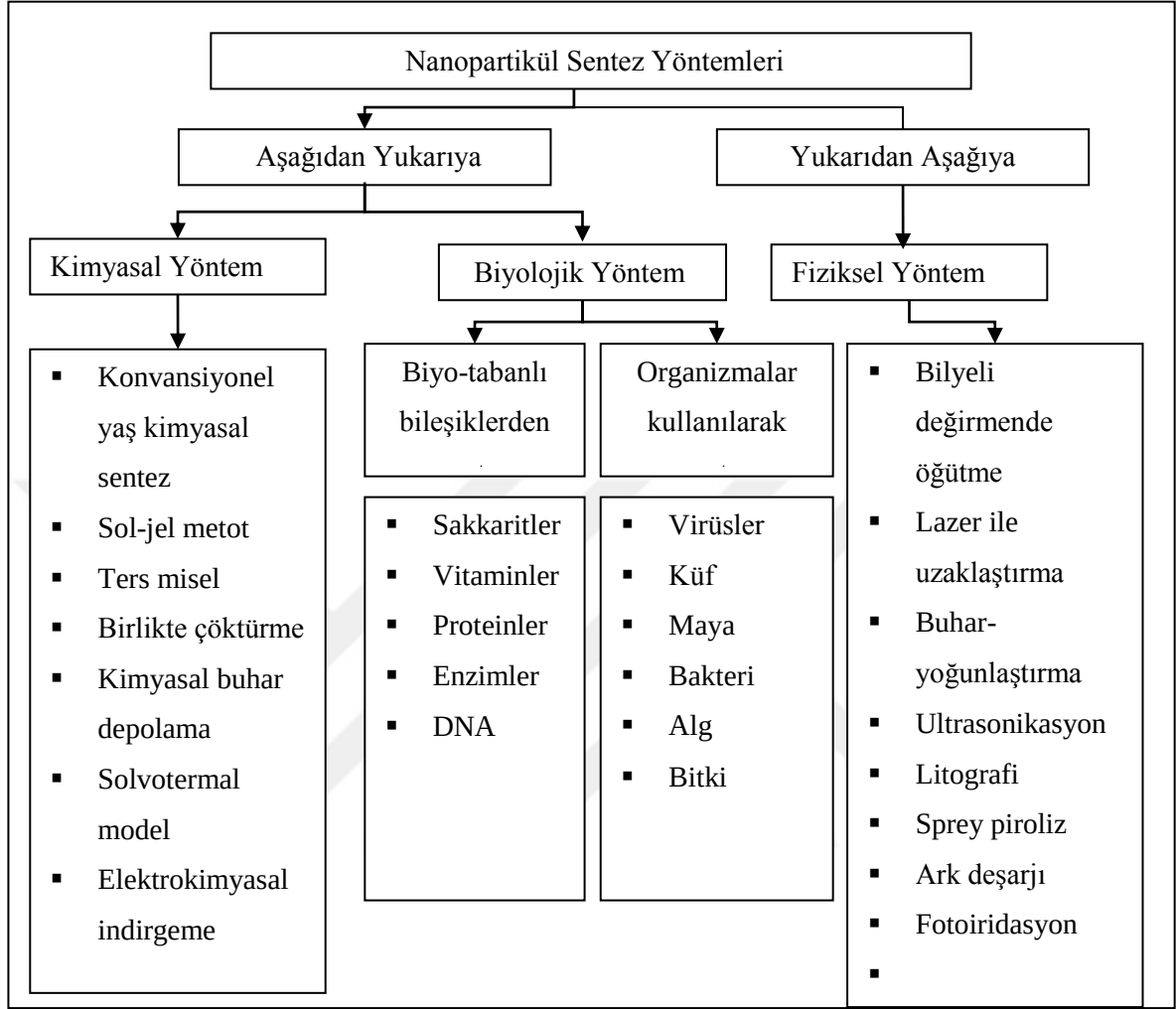
Nanopartiküllerin sentez edilmesinde en fazla çevre dostu yöntemlerden biri yeşil sentezdir (Çiftçi vd., 2021). Yeşil sentez yöntemi, nanopartiküllerin sentezi için mantar, algler, bakteri ve bitki özlerinden faydalanmaktadır (Evliyaoğulları, 2019). Özellikle, mikroorganizmalar ve bitkiler bu yöntemin temelini oluşturmaktadır. Bahsedilen organizmalar temini kolay ve mevcudiyeti fazla olması önemli olup, böylelikle yüksek miktarda nanopartikül biyosentezi yapılabilir. Sentezle birlikte bitkiden üretilen nanopartiküller hem düşük maliyetlidir ve hem de çok hızlı üretilir ve ayrıca stabilesi yüksektir (Karakurt, 2019).

1900'lü yıllardan bu yana bitkilerden elde edilen metallerin indirgeme kabiliyetleri biliniyor olmasına rağmen indirgemeye neden olan doğal ajanların etkinlikleri hangi şekilde gösterdikleri noktasında açıklayıcı bir bilgi halen rapor edilmemiştir. Son zamanlarda ise bu durum daha çok organizmanın içeriğinin metal tuzlarını indirgeme özelliğine atfedilmektedir (Beykaya ve Çağlar, 2016). Nanopartiküller üstün nitelikte elektriksel, termal ve optik özelliklere, sahip olmaları ile algılama, görüntüleme, teşhis, genetik, ilaç, implantlar ve doku mühendisliği gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Turgut, 2019).

1.3.2. Nanopartiküllerin Üretim Yöntemleri

Nano partiküllerin sentez edilmesinde aşağıdan yukarı “bottom up” ve yukarıdan aşağı “top down” şeklinde iki yöntem kullanılmaktadır. Biyolojik ve kimyasal yöntemler aşağıdan yukarı yaklaşımı olarak, fiziksel yöntemler ise yukarıdan aşağı yaklaşım olarak bilinmektedir. Yukarıdan aşağıya olan yöntemde maddeye kimyasal ya da mekanik enerji verilerek, makro boyutta olan maddenin nano boyuta indirgenmesi sağlanır. Aşağıdan yukarı sentez yönteminde ise moleküler ya da atomik ölçekteki maddelere kimyasal enerji verilerek nanopartiküller oluşturulur. Bu sentez yöntem hem ucuz olması hem de etkinliğinin yüksek olmasından dolayı yukarıdan aşağı sentez yöntemine göre daha fazla

tercih edilmektedir (Beykaya ve Çağlar, 2016). Nanopartiküllerin sentez yöntemleri Şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 3. Nanopartiküllerin sentez yöntemleri (Kaabipour ve Hemmati, 2021)

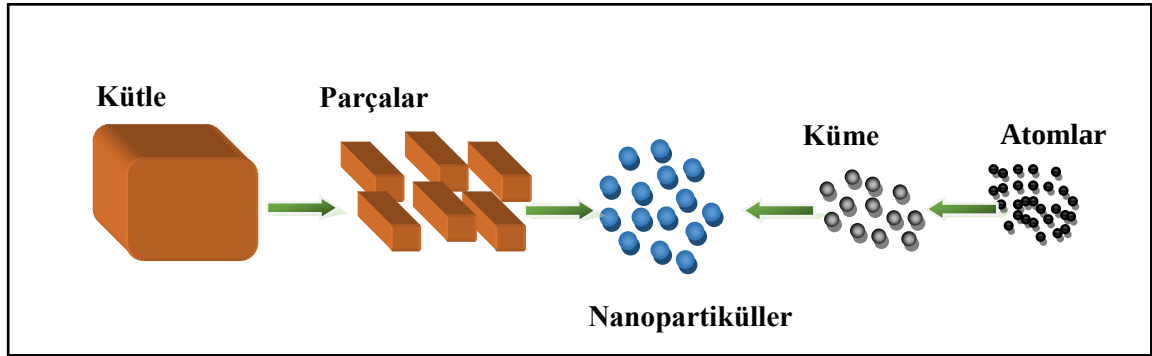
1.3.2.1. Yukarıdan Aşağıya (Top Down) Yaklaşımı

Yüksek hacimli malzemelerin küçük nano boyutlu parçacıklara dışarıdan fiziksel ve kimyasal işlemlerle enerji verilerek nano ölçekteki bir malzemeye dönüştürülmesi işlemi bu yaklaşım kullanılarak yapılır (Şekil 4). Yukarıdan aşağıya yaklaşımların kullanımı basit olsa da, düzensiz şekilli ve son derece küçük parçacıkların üretilmesinde etkisizdirler. Uygun parçacık boyutunu ve şeklini elde etmenin zorluğu, bu yaklaşımın ana dezavantajıdır (Abid vd., 2021).

1.3.2.2. Aşağıdan yukarıya (Bottom-Up) Yaklaşımı

Aşağıdan yukarıya yöntem, yukarıdan aşağıya yöntemin zıttı olarak tanımlanabilir. İyi tanımlanmış şekle, boyuta ve kimyasal bileşime sahip nanoparçacıklar, yapı taşları olarak atomların ve moleküllerin büyümesi ve kendiliğinden birleşmesi yoluyla oluşur.

Şekil 4, yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya yaklaşımları göstermektedir (Abid vd., 2021).



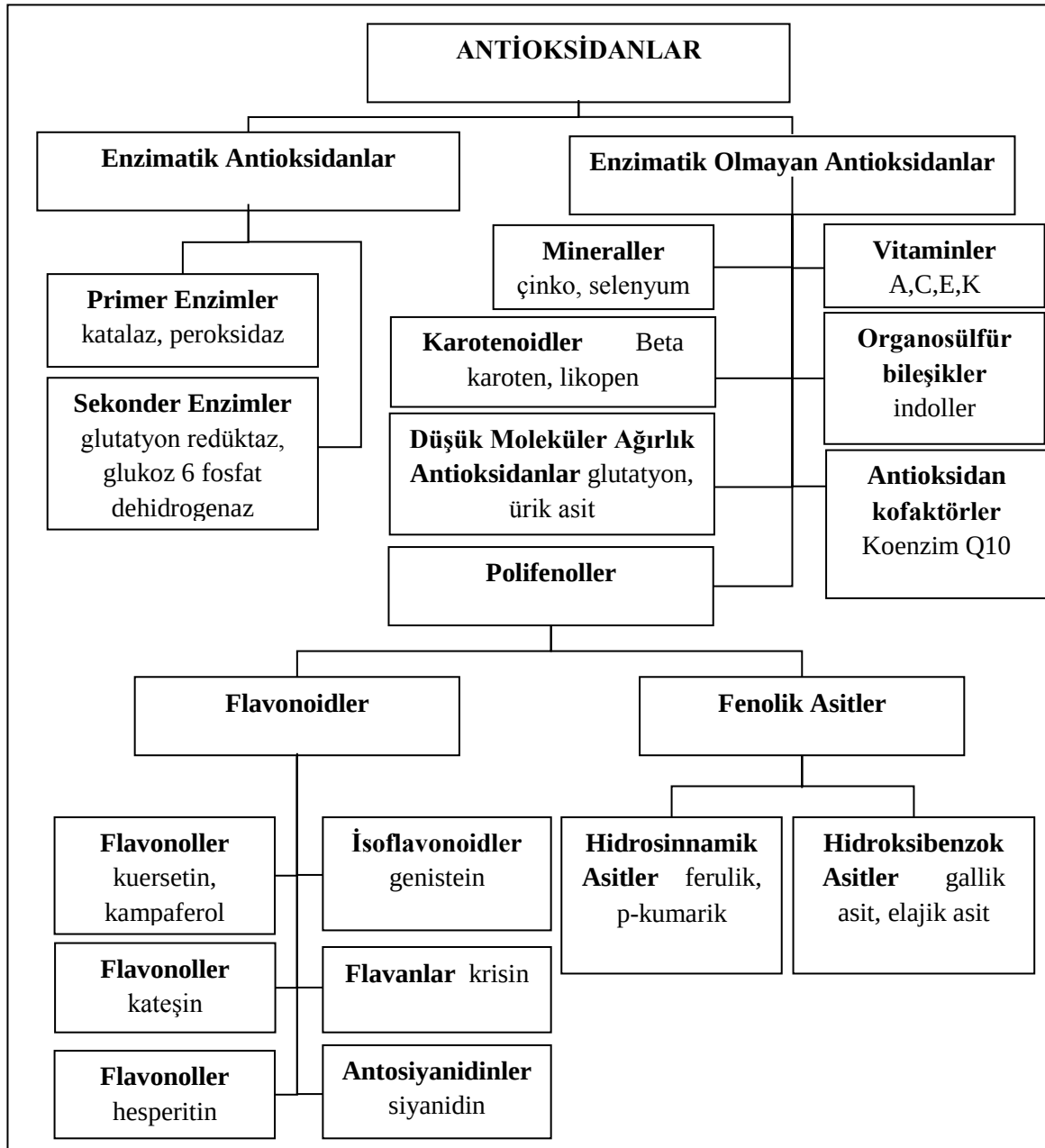
Şekil 4. Nanopartiküllerin aşağıdan-yukarı ve yukarıdan-aşağı sentez yöntemleri

1.4. Antioksidan Aktivite

Hücrelerde hasar oluşturan reaktif oksijen tiplerinin meydana gelmesini engelleyen ve aynı zamanda bunların neden olabileceği hasarların oluşumunu ortadan kaldıran, savunma sistemlerin “antioksidan savunma sistemleri” veya “antioksidanlar” adı verilir. Antioksidanlar, hücre hasarlarını onarmaya yardımcı olan ve serbest radikalleri etkisiz hale getiren yapılardır (Karabulut ve Gülay, 2016).

Antioksidanlar, yapay antioksidanlar (enzim olmayanlar) ve doğal antioksidanlar (enzimler) olmak üzere iki gruba ayrılırlar (Yavaş, 2011). Doğal antioksidanlardan enzim olanlara glutatyon peroksidaz (GSH-Px), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon S transferaz ve sitokrom oksidaz örneklerini verebiliriz, enzimatik olmayan antioksidanlara ise (endojen ve eksojen) glutatyon, ferritin, A vitamini (β -karoten) ve E vitamini (α - tokoferol) gibi örnekleri verilebiliriz (Şekil 5) (Yavaş, 2011; Aslankoç vd., 2019). Bitkilerin yaprak, gövde ve tohumlarında doğal antioksidanların miktarları oldukça fazladır (Arıdur, 2013). Doğal antioksidanların radikallere karşı etkinliklerinin yanında enzim inhibitörü ve diğer maddeler ile birliktelik göstererek savunmada etkindirler. (Velioglu, 2000). Yapay antioksidanlar nükleik asit bağlarında bozulmaya neden olduğu ve kanser oluşumunu tetikleyen, hücreyi öldüren ya da fonksiyonunu durduran etkileri ile DNA'ya zarar verebilmektedir (Çiftçi, 2017). Yapay antioksidanların uçuculuğunun yüksek olmasından dolayı ısıtılma sırasında miktarlarının azalmasına neden olmaktadır (Meral, 2016). Bitki kaynaklı antioksidan aktivite testleri ve elde etme yöntemlerine ilgi her geçen gün artmaktadır (Okan vd., 2013). Endüstriyel alanda veya bilimsel araştırmalarda, mevcut bilinen doğal ve sentetik antioksidanları elde etmek için, aromatik bitkilerin ve baharatların antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin araştırılması oldukça ilgi görmektedir (Küçük, 2020). Canlı sisteminin, serbest radikalleri ve diğer oksidanların zararlı etkilerini azaltmak

veya ortadan kaldırmak için doğal enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunmalarını kapsayan anlaşılması güç bir sistem vardır (Eraslan, 2020). Antioksidan ağırlıklı beslenme ile serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koruma sağlanmaktadır (Yılmaz, 2010). Günlük besin ihtiyacını karşılayan sebzeler ve meyveler, antioksidan açısından oldukça zenginlerdir (Bayram vd., 2013). Besin yoluyla alınan antioksidanlar gıdalardaki oksidatif bozulmayı önlediği veya geciktirdiği gibi canlı sisteminde de serbest radikallerin zarar verici etkilerini azaltmakta ve insan sağlığını olumlu yönde etkilemektedir. Bu antioksidan maddelerin vücuda girmesiyle radikal zincir oluşumlarını engelleyerek veya reaktif türlerin oluşmasını önleyerek radikal türlerin canlı sisteminde oluşturacağı olumsuz etkilerinden de korur (Kasnak ve Palamutoğlu, 2015).



Şekil 5. Antioksidanların sınıflandırılması (Bunaciu vd., 2016).

Farklı nitelikteki ve farklı orijinli numunelerin antioksidan aktivitesinin veya kapasitenin belirlenmesinde farklı mekanizmalara sahip yöntemler kullanılmaktadır (Bedlovičová vd., 2020). Tablo 1’de spektrofotometrik ölçüme dayalı metotlar gösterilmiştir (Bedlovičová vd., 2020) gösterilmiştir.

Tablo 1. Antioksidan aktivite belirleme yöntemleri (Bedlovičová vd., 2020).

Metot	Dayandığı Yöntem
DPPH	Organik radikal ile reaksiyon
ABTS	Organik radikal ile reaksiyon
DMPD	Organik radikal ile reaksiyon
FC	Mo ⁶⁺ ve W ⁶⁺ ile reaksiyon
FRAP	Fe ³⁺ ile reaksiyon
ORAC	AAPH tarafından başlatılan peroksil radikali ile reaksiyon
HORAC	Co ²⁺ bazlı Fenton benzeri sistemler tarafından üretilen OH radikalleri ile reaksiyon
TRAP	AAPH ayrışması sırasında üretilen luminol türevi radikallerle reaksiyon
Lipid peroksidasyon inhibitör	Fenton benzeri sistemler (Co ²⁺ + H ₂ O ₂)
PFRAP	Potasyum ferrisiyanür indirgemesi
CUPRAC	Cu ²⁺ ’nın Cu ¹⁺ ’ya indirgenmesi

1.4.1. Nanopartikülleri Antioksidan Aktiviteleri

Organik metal oksitler veya metal bazlı nanopartiküller dahil olmak üzere bazı nanomalzemeler, genellikle radikal yakalama ve/veya süperoksit dismutaz benzeri ve katalaz ile ilişkili içsel redoks aktivitesi sergilemelerden dolayı antioksidan aktivite gösterme kabiliyetindedirler (Valgimigli vd., 2018). Son yıllarda dinamik olarak gelişen ümit verici bir eğilim, antioksidan işlevselleştirilmiş nanoparçacıkların sentezidir. Bu tür bir modifikasyon, biyouyumluluk, yüksek stabilite ve hedeflenen dağıtım yararları sağlayan antioksidanların biyoyararlanımını geliştirir (Flieger vd., 2021). Metal ve metal oksitlerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesine yönelik olarak bir çok çalışma gerçekleştirilmiştir (Mittal vd., 2012; Kharat ve Mendhulkar, 2016; Stozhko vd., 2019; Gedikli, 2022; Üstün vd., 2022).

1.5. Antimikrobiyal Aktivite

Geçmişten günümüze mikroorganizmalar başta virüs ve bakteriler olmak üzere oluşturdukları enfeksiyonlar ile diğer canlılar üzerinde özellikle de insanlarda ölümlere kadar gidebilecek ciddi sorunlar oluşturmuşlardır. Bazen oluşturuldukları salgınlar ile de milyonlarca insanın ölümüne neden olmuşlardır. Günümüzde de bu durum halen devam etmektedir.

Enfeksiyonlara karşı mücadelede aşı ve antibiyotiklerin kullanımı yaygın olarak uygulanmaktadır. Ancak mikroorganizmalarda çeşitli faktörlere bağlı olarak oluşan mutasyonlara karşı mevcut antibiyotikler yetersiz kalabilmektedirler. Dolayısıyla yeni yaklaşımların ve yeni antibiyotiklerin keşfi bu açıdan önem kazanmaktadır. Son zamanlarda, mikroorganizmalar tarafından antimikrobiyallere karşı mücadelede farklı madde ve kaynaklardan yeni antimikrobiyallerin araştırılmasına ve geliştirilmesine dair yoğun bir ilgi olmuştur. Bu nedenle antimikrobiyal aktivite tarama ve değerlendirme yöntemlerine daha fazla önem verilmektedir (Balouiri vd., 2016). Tarihsel olarak bitkiler, insan sağlığına ve refahına büyük katkılarda bulunan yeni ilaçlar ve bitki türevli ilaçların geliştirilmesi için bir kaynak sağlamıştır (Vashist ve Jindal, 2012). Dolayısıyla, bu tür antimikrobiyal aktivite gösteren bileşikler bitkilerde yaygın olarak bulunmakta olup, bitkilerin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi üzerine bir çok çalışma yapılmıştır. Birçoğu da geleneksel tıpta kullanılan bitki özlerindeki uçucu yağlar, alkaloidler, flavonoidler, seskuiterpen laktonlar, diterpenler, triterpenler veya naftokinonlar gibi izole bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesini belirlemeye odaklanmıştır (Rios ve Recio, 2005).

1.5.1. Antimikrobiyal Aktivite Tayin Yöntemleri

Antimikrobiyal aktivite testleri, antimikrobiyal aktiviteye sahip olan maddenin mikroorganizmalara karşı ne derece etkili olduğunu tespit etmek için kullanılmaktadır. (Çelik ve Çelik, 2007). Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde en sık kullanılan yöntemler (Balouiri vd., 2016):

1. Difüzyon metotları
 - 1.1. Agar disk difüzyon metot
 - 1.2. Antimikrobiyal gradient metot
 - 1.3. Agar kuyucuk difüzyon metodu
 - 1.4. Agar plug difüzyon yöntemi
 - 1.5. Çapraz çizgi yöntemi
 - 1.6. Zehirli gıda yöntemi

2. İnce tabaka kromatografisi (TLC)-Biyootografi

2.1. Agar difüzyon

2.2. Direkt biyootografi

2.3. Agar kaplama biyoassay

3. Dilüsyon metotları

3.1. Agar dilüsyon metot

3.2. Broth dilüsyon metot

4. Zamana bağlı öldürme testi (zaman ölüm eğrisi)

5. ATP biyoluminesansı metot

1.5.2. Nanopartikülleri Antimikrobiyal Aktiviteleri

Çeşitli metallerin, metalik oksitlerin ve metalik tuzların antibakteriyel özellikleri yüzyıllardır bilinmektedir. Gümüş (Ag), altın (Au), bakır (Cu), bizmut (Bi) gibi metaller ve magnezyum oksit (MgO), demir oksit (Fe₃O₄), çinko oksit (ZnO), bakır oksit (CuO) ve titanyum dioksit (TiO₂) gibi metal oksit nanopartikülleri antimikrobiyal tedavi için kullanımları düşünülmüş olmakla birlikte (Unal vd., 2022), günümüzde ise nanoparçacıklar, tedavi yöntemlerindeki bazı yetersizlikler nedeniyle çok fazla ilgi çekmiştir (Huq vd., 2022). Nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivite gösterdiğine dair bir çok çalışma gerçekleştirilmiştir (Dizaj vd., 2014; Qamer vd., 2021). NP'lerin antibakteriyel aktivite göstermesi, belirli durumlarda mikroorganizmaların gösterdikleri ilaç direncini etkili bir şekilde kırabilmeleri ile ilişkilendirilmektedir (Wang vd., 2017). Tabi ki burada sadece nanopartikülün varlığı antibakteriyel aktivite göstermesi ile direkt olarak ilişkilendirilmemelidir. Metal oksit NP'lerin fiziksel (boyut ve şekil) ve kimyasal özellikleri ve sentezlenme şekli bakterilerin artan direnci nedeniyle hayati önem kazanan biyolojik sistemlerle etkileşime girmelerine olanak tanır. Son zamanlarda, kataliz, yarı iletkenler, sensörler, kontrollü ilaç salınımı ve antimikrobiyal ajanlar gibi geniş bir alanda uygulamaları için farklı şekil ve boyutlarda çeşitli metal oksitler üzerinde temel ve uygulamalı araştırmalar yapılmıştır (Vega-Jiménez vd., 2019).

1.6. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada, Gümüşhane Üniversitesi Merkez Kampüs alanında peyzaj amaçlı süs bitkisi olarak yetiştirilmiş ateş diken (Pyracantha coccinea) bitkisinin meyvelerinden demir nanopartikülü sentezlenmesi, bu partiküllerin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi ve partikül oluşumu ile birlikte aktivite değerlerinde meydana gelen değişimin hangi düzeyde olduğunun tespiti amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Numunelerin Toplanması

Ateş dikenî meyveleri Kasım 2022 ayında Gümüşhane Üniversitesi kampüs alanı içerisinde peyzaj amaçlı olarak yetiştirilmiş bitkilerden toplanılmıştır. Toplanan meyveler ışık almayan bir ortamda oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır (Şekil 6).



Şekil 6. Kurutulmuş Ateş dikenî bitki meyveleri.

2.2. Ateş Dikenî Ekstraktlarının Hazırlanması

İlk olarak kurutulan meyve örnekleri blenderden geçirilerek toz haline getirildi. Ardından toz haline getirilen numuneden 500 g alınarak hazırlamak için 10 L hacme sahip bir kaba 7.5 L su ile karıştırıldı. Kapın ağzı kapalı tutularak 2.5 saat süre ile kaynatıldı. Ekstrakt oluşumu gerçekleştirildikten sonra soğumaya bırakılmadan sırası ile 2.00 mm, 1.00 mm ve 0.25 mm gözenek çağına sahip eleklerden geçirilerek süzme işlemi gerçekleştirildi. Ardından elekten geçirilen ekstraktın kuru madde içeriği dijital refraktometre (Hanna HI96801) ile tespit edildi Yapılan analiz neticesinde meyve ekstraktının kuru madde miktarı içeriği $\%4.00 \pm 0.25$ olarak tespit edildi. Meyve ekstraktının kuru maddesi daha sonra vakum evaporatör kullanılarak 60 °C’de 150 mbar basınç altında $\%10$ ’a çıkartıldı (Gedikli, 2022).

2.3. Demir Nanopartiküllerin Hazırlanması

Ateş dikenini meyve örneklerinden demir nanopartiküllerinin hazırlanması için 125 mL 0.2 M Fe^{+3} çözeltisi $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ maddesi kullanılarak hazırlanmıştır. İlk olarak 6.75 g numune tartıldı. Ardından, 1.9 g FeSO_4 maddesi 0.1 M Fe^{+2} 125 mL çözelti hazırlamak için alındı. Ayrı ayrı beherlerde her iki madde çözüldü ve balon jodeleştirilerek 250 mL'ye tamamlandı. Ardından 600 mL hacimli bir behere 250 mL %10 kuru madde içeriğine sahip ateş dikenini ekstraktı eklendi. Bir pH metre cihazı (OHAUS Starter 3000 marka) kullanılarak pH değeri 1.0 M NaOH eklenmesiyle 11.00 olarak ayarlandı. Bunu takiben çözelti bir magnetik karıştırıcıda karıştırılarak (750 rpm) 1 saniyeye 1 damla karşılık gelecek şekilde $\text{Fe}^{+2}/\text{Fe}^{+3}$ çözeltisinden ayırma hunisi kullanılarak damlatma işlemi gerçekleştirildi. Bu damlatma işlem 125 mL için 60 dk tamamlandı. Ardından 60 dakika boyunca beherin ağzına bir cam ile kapatılarak 750 rpm'de karıştırıldı.

Fe_3O_4 oluştuğundan dolayı çözeltide renk değişimi (tamamen siyaha dönüştür) gözlemlendi. Oluşan demir nanopartikülü (Fe-NP) çözeltisi 6 adet 50 ml falkon santrifüj tüpüne aktararak bir santrifüj cihazında (NÜVE NF 800R) 7000 rpm'de santrifüj edildi. Santrifüj etme işlemi her işlem bitiminde oluşan çöküntünün saf su ile yıkanmasının gerçekleştirilmesi ile 3 tekrarlı yapıldı. Çökelekler darası 120x20 mm kapaklı cam petrilere konuldu. Son olarak etüv içerisinde 60 °C'de vakumlu cam desikatör kullanılarak kurutulma işlemi gerçekleştirildi (Yusefi vd., 2020; Gedikli, 2022). Şekil 7'de ateş dikenini bitki meyvelerinden sentezlenen Fe-NP'lerin genel görünümü verilmiştir.



Şekil 7. Ateş dikenini bitki meyvelerinden sentezlenen Fe-NP'ler.

2.3.1. Metal Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

2.3.1.1. Demir Nanopartikülleri Karakterizasyonu

XRD, FTIR ve SEM analizleri Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (DAYTAM) yaptırılmıştır.

2.3.1.2. Fourier-Transform İnfrared (FTIR) Spektrofotometre Analizi

FT-IR spektrofotometresi ölçümleri Bruker VERTEX 70v cihazında Opus programı kullanılarak 400-4000 aralığında 32 defa 4 cm^{-1} hassasiyetinde absorbans olarak tarandı.

2.3.1.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX) Analizi

Sentezi yapılmış olan ateş diken meyvesi nanopartiküllerin görüntüleri ve element analizleri Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM- Zeiss Sigma 300) kullanılarak elde edildi SEM cihazında inLens dedektör kullanılarak ölçüm alındı.

2.3.1.4. X-Işınları Kırınım Kristalografisi (XRD) Analizleri

XRD cihazında (PANalytical Empyrean XRD) 45kV 40mA de tarama hızı 0.05 derece/saniye çalışılarak kristal boyut analizi yapıldı.

2.4. Antioksidan Aktivite Tayini

2.4.1. ABTS^{•+} Süpürücü Etki Tayini

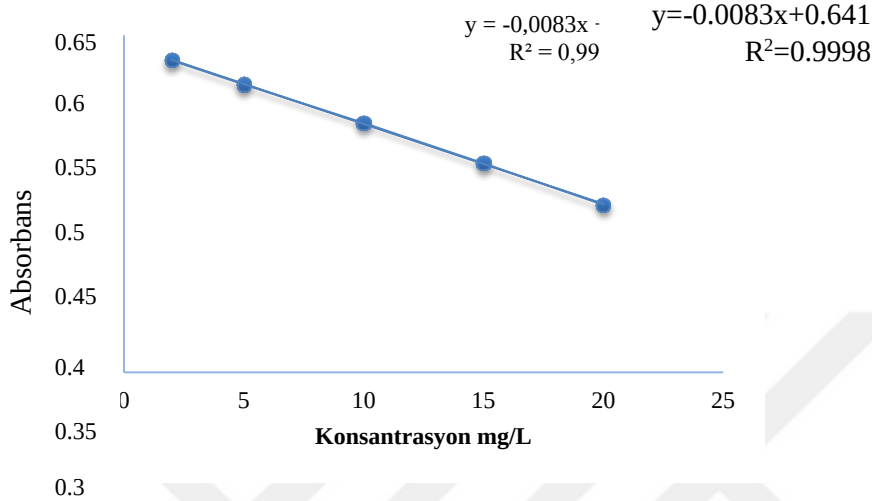
Re vd., (1999) tarafından geliştirilen bu metot aşağıda belirtildiği gibi uygulanmıştır.

Ana stok ABTS^{•+} çözeltisi reaktifinin hazırlanması: ABTS (0.0384 mg) ve potasyumpersülfat (0.0134 g) saf su içerisinde çözüldü. Oluşan çözeltiden 10 mL alınarak balon jojede (100 mL hacimli) saf su kullanılarak sulandırma işlemi gerçekleştirildi. (1:9 v/v). Ardından, çözelti kararlı hale gelmesi için karanlıkta 12 saat boyunca bekletilmiştir.

ABTS^{•+} çalışma çözeltinin hazırlanması: İlk aşamada 150 mL metanol ile kullanılarak 25 mL ana stok çözeltisi için seyreltme işlemi yapılmıştır. Spektrofotometrede çözelti 734 nm'de okunduğunda absorbansı 0.706 ± 0.001 gelmesi gerekmektedir. Aksi durum oluşması halinde metanol kullanılarak seyreltme yapılır ve ya ilave işlemi ana stoktan yapılarak absorbans 0.706 ± 0.001 değerine ayarlanır.

Ateş diken meyve ekstrakt numunesinden 150 μL ve Fe-NP'den ise 10 mg alınarak 150 μL saf su ilave edildi. Ardından, 2.85 mL ABTS çözeltisi eklenmiştir. Karışıma vortekslenme işlemi uygulandıktan sonra 2 saatlik bir süre boyunca karanlıkta

bekletilmiştir. Çözelti ardından 734 nm’de spektrofotometrik olarak absorbansı okunmuştur. Kör olarak 150 µL metanol kullanılmıştır. Troloks standardından 150 µL alınarak örnek için yapılan işlemler tekrar standart için gerçekleştirilmiştir. (Ahmed vd., 2015). Radikal katyonu süpürücü etki tayini için oluşturulmuş kalibrasyon grafiği Şekil 8’de verilmiştir.



Şekil 8. ABTS•+ Radikal katyonu süpürücü etki tayini kalibrasyon eğrisi

2.4.2. DPPH Serbest Radikal Temizleme Aktivitesi Tayini

Bu metot Brand-Williams (1995) tarafından geliştirilmiş olup, antioksidan bileşikler tarafından DPPH radikalinin oluşturduğu mor rengin indirgemesine dayalı olarak spektrofotometrik olarak antioksidan aktivite değerinin belirlendiği bir yöntemdir.

Ana stok DPPH (10 mM) Reaktifinin hazırlanması: DPPH (39.5 mg) 10 mL hacmindeki metanol çözeltisi içerisinde çözülmüştür. Meydana gelen karışım daha sonrasındaki deneyler için buzdolabında ortamında depo edilmiştir.

DPPH çalışma çözeltinin hazırlanması: İlk olarak 2.5 mL ana stok çözeltisinden alınarak metanol ile 250 mL’ye tamamlanmıştır. Oluşan çözeltinin spektrofotometrede 517 nm’de absorbans değeri 0.980 ± 0.02 gelmesi gerekmektedir.

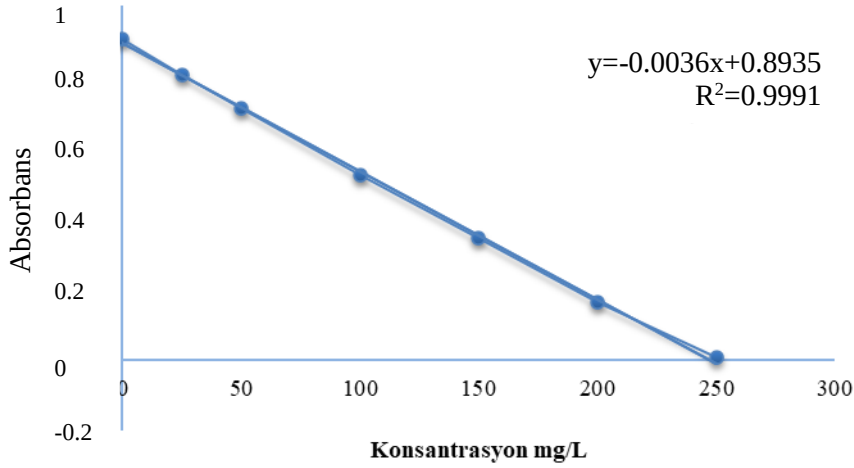
Ateş dikenini meyve ekstrakt numunesinden 150 µL ve Fe-NP’den ise 10 mg alınarak 150 µL saf su ilave edildi. Ardından örnekler ve standartlara 3 mL hacmindeki DPPH çalışma çözeltisine eklenmiştir. Bunu takiben karışım vorteks edilmiş, 30 dk’lık bir süre boyunca beklenilmiştir. Bunu takiben spektrofotometre cihazında 517 nm’de okuma işlemi gerçekleştirilmiştir. metanol kör olarak kullanılmıştır. Aynı işlemler askorbik asit standardı için de gerçekleştirildi. Aşağıda belirtildiği şekilde DPPH radikal temizleme miktarları

hesaplanmıştır (Ahmed vd., 2015). Hesaplamalar Eşitlik 1’de görüldüğü biçimde yapılmıştır. DPPH serbest radikal temizleme aktivite analizi kalibrasyon eğrisi Şekil 9’da verilmiştir.

$$\% \text{ İnhibisyon Kapasite} = (((Ac-As)/Ac)) \times 100 \quad (\text{Eşitlik 1})$$

Ac: Körün absorbansı

As: Numune absorbansı



Şekil 9. DPPH serbest radikal temizleme aktivite analizi kalibrasyon eğrisi

2.4.3. Demir İndirgeyici Antioksidan Güç (FRAP)

Benzie ve Strain (1996) tarafından geliştirilen bu metot aşağıda belirtildiği gibi uygulanmıştır.

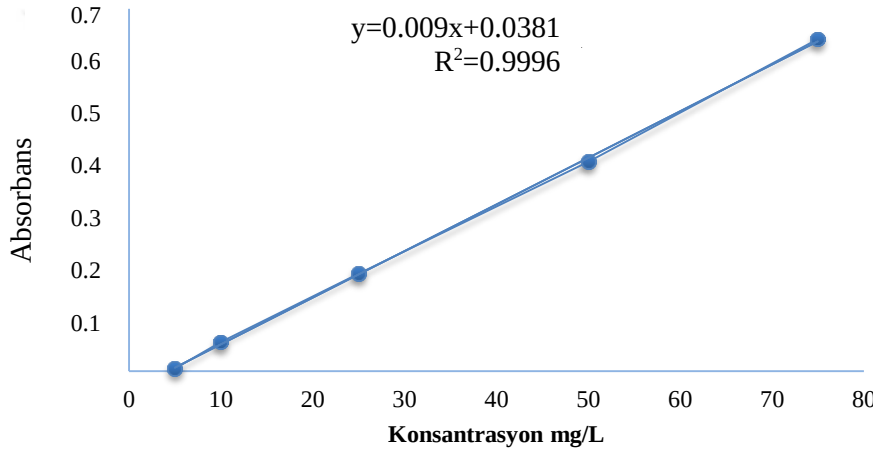
300 mM asetat buffer: Cam balona sodyum asetat trihidrat (3.1 g) tartılmıştır. Ardından, çözme işlemi saf su kullanılarak yapıldı ve glasiyal asetik asit (16 mL) ilavesi yapıldı. Karışımın pH değeri 3.60’a ayarlanarak, hidroklorik asit (40 mM) çözeltisi için 3.4 mL hidroklorik asit (% 37’lik derişik) alınarak hacmi 1000 mL’ye litreye tamamlandı. Bunu takiben, 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (10 mM’lık) çözeltisinde ise 2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride (3.123 g) HCl (40 mM) çözeltisi ile hacmi 1000 mL’ye tamamlandı. Son olarak demir (III) klorür hekzahidrat (20 mM) çözeltisi için ise 5.406 g demir (III) klorür hekzahidrat saf su ile 1000 mL’lik hacme tamamlanmıştır.

FRAP çözeltisi: Asetat buffer çözeltisi, 10 mM TPTZ çözeltisi, 20 mM FeCl₃. 6H₂O (10:1:1) kullanılarak hazırlanmıştır. FRAP çözeltisi kullanılmadan önce 37 °C’de 15 dk boyunca bekletilmiştir.

Ana Stok 1000 mg/L demir iki sülfat heptahidrat çözeltisi: Demir iki sülfat heptahidrat bileşiginden 1.830 g miktarında bir tartım yapılarak 1 litreye tamamlanmıştır.

Çalışma standartları: Ana stok $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ çözeltisinden 5, 10, 25, 50, 100 ve 150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ çözeltiler hazırlanmıştır.

Ateş dikenii meyve ekstrakt numunesinden 150 μL ve Fe-NP'den ise 10 mg alınarak 150 μL saf su ilave edildi. Bu işlemi takiben 2.75 mL FRAP çözeltisine eklendi. Bunu takiben, karışım vorteks edilerek ve 30 dk'lık bir periyot boyunca beklenildi. 250 μL saf su kör olarak kullanıldı. Ardından, Aynı işlemler standarttan 250 μL alınıp tekrarlandı. Örneklerdeki FRAP madde miktarları; FeSO_4 (10, 25, 50, 100 ve 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$) çözeltisi kullanılarak oluşturulan kalibrasyon grafiğinin doğru denklemine dayalı olarak FRAP değeri mg FeSO_4 Eşdeğeri/kg olarak hesaplanmıştır. (Ahmed vd., 2015). FRAP kalibrasyon eğrisi Şekil 10'da verilmiştir.

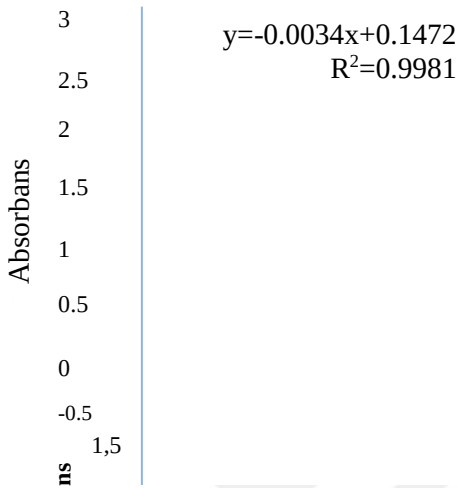


Şekil 10. FRAP antioksidan kapasitesi kalibrasyon eğrisi

2.4.4. Toplam Antioksidan Madde İçeriği

Reaktifin hazırlanması: İlk olarak 1.6 mL H_2SO_4 , 28 mM monobazik sodyumfosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) (0.2295 g) ve 4 mM (0.2472 g) amonyum heptamolibdat tetrahidrat (amonyum molibdat) ($\text{H}_2 \text{Mo}_7 \text{N}_6 \text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2 \text{O}$) 12 mL metanole 1.6 mL H_2SO_4 ilave edilip 50 mL'ye konup üzerine 28 mM (0.2295 g) monobazik sodyumfosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 50 mL'ye tamamlanır. Alüminyum folya ile temas ettirilmez. Testin gerçekleştirilmesinde ilk olarak, Ateş dikenii meyve ekstrakt numunesinden 500 μL ve Fe-NP'den ise 10 mg alınarak 500 μL saf su ilave edildi. 2.5 mL deiyonize su ilave edilmiştir. Ardından, karışıma 1 mL molibdat reaktifi ilavesi yapılmıştır. Karışım vortekslenip ve 90 dk boyunca su banyosunda 95°C'de ağız kısımları kapalı olacak biçimde inkübasyona bırakılmıştır. Tüpler inkübasyon işleminden sonra su banyosu cihazından çıkartılarak oda sıcaklığı şartlarına gelmesini sağlamak için 30 dk beklenilmiştir. örnek yerine 500 μL saf su kör olarak kullanılmıştır. Reaksiyonlar neticesinde meydana gelen karışımlarının

absorbansı 695 nm’de spektrofotometrede okunmuştur. Standart için aynı işlemler standarttan 500 µL alınıp gerçekleştirilmiştir. Örneklerin TAC miktarı askorbik asit standardının (25, 50, 100, 150, 400 ve 800 µg/mL) çözeltisi kullanılarak oluşturulan kalibrasyon grafiğinin doğru denklemine dayalı olarak TAC mg AA Eşdeğeri/ kg numune şeklinde belirlenmiştir (Prieto vd., 1999). TAC eğrisi Şekil 11’de verilmiştir.

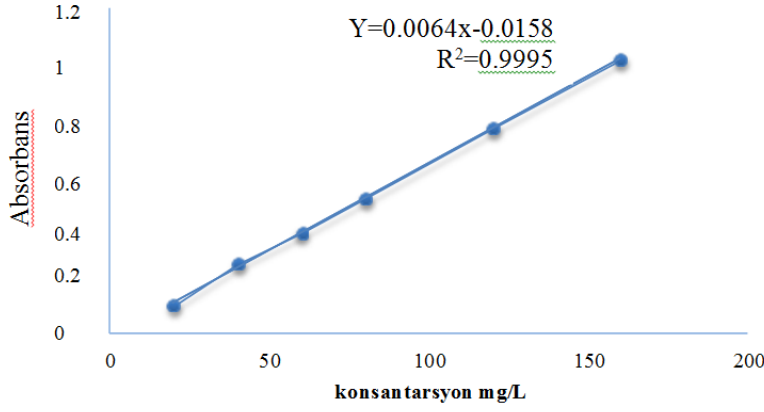


Şekil 11. Toplam antioksidan analizi kalibrasyon eğrisi

2.4.5. Toplam Fenolik İçeriği

Ateş dikenli bitkisi meyvelerinin toplam fenolik madde içerikleri folin–ciocalteu’s reaktifi kullanılarak analiz edilmiştir (Slinkard ve Singleton, 1977). Ateş dikenli meyve ekstrakt numunesinden 300 µL ve Fe-NP’den ise 10 mg alınarak 300 µL saf su ilave edildi. alınarak 3.4 mL saf su eklenip, karışıma metanol (0.5 mL hacminde) ve sonrasında folin–ciocalteu’s reaktifi (200 µL hacminde) eklenmiştir. Ardından, karışım vortekslenip ve 10 dk oda şartlarında bekletilip, ardından 0.6 mL %10 lik sodyum karbonat çözeltisi eklenmiştir. Nihai karışım bir kez daha vortekslenildikten sonra 2 saatlik bir periyot süresince karanlıkta oda sıcaklığı şartlarında inkübasyona bırakıldı. Bu periyotun sonunda karışım absorbans değeri 760 nm’de spektrofotometrede okunarak kaydedilmiştir. Ek olarak, 500 µL methanol +100 µL folin–ciocalteu’us reaktifi + 600 µL sodyum karbonat ve 3.7 mL su karışımı Kör olarak kullanılmıştır.

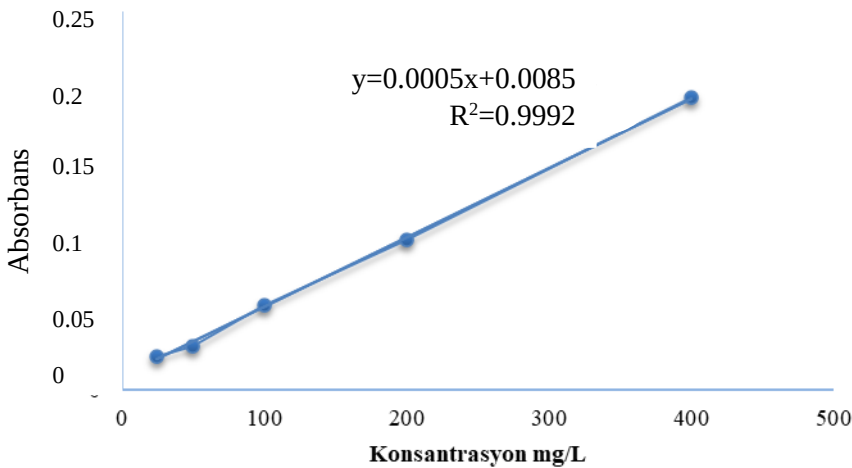
Örneklerin TPC miktarları; gallik asidin (160, 120, 80, 60, 40 ve 20 µg/mL) çözeltisi kullanılarak oluşturulan kalibrasyon grafiğinin doğru denklemine dayalı olarak TPC miktar mg GA Eşdeğeri/ kg numune şeklinde gösterilmiştir. TPC analizi kalibrasyon grafiği Şekil 12’de verilmiştir.



Şekil 12. Toplam fenolik madde analizi kalibrasyon eğrisi

2.4.6. Toplam Flavonoid Madde İçeriği

İlk aşamada, ateş diken meyve ekstrakt numunesinden 150 µL ve Fe-NP'den ise 10 mg alınarak 150 µL saf su ilave edildi ve 3.2 mL metanol (% 30 v/v) üzerine eklenmiştir. Karışım vortekslenip üzerine 150 µL hacimde 0.5 M sodyum nitrit çözeltisinden ilave edilip, ardında 0.3 M alüminyum klorür 150 µL hacminde eklenmiştir. Ardından, 5 dk beklendi ve 1 mL 1 M sodyum hidroksit çözeltisi ilave edildi. Takiben, karışım bir kez daha vortekslenip 10 dk'lık bir beklemenin ardından spektrofotometre cihazında 506 nm'de absorbansı okunmuştur. 500 µL saf su kör olarak kullanılmıştır. Aynı işlemler Standartlardan 500 µL alınıp gerçekleştirilmiştir. Örneklerin toplam flavonoid madde miktarları; kateşin veya kuersetin (25, 50, 100, 200, ve 400 µg/mL) çözeltisi kullanılarak oluşturulan kalibrasyon grafiğinin doğru denklemine dayalı olarak toplam flavonoid mg kateşin Eşdeğeri/ L numune olarak tespit edilmiştir (Kasangana vd. 2015). Toplam flavonoid madde içeriği kalibrasyon eğrisi Şekil 13'de verilmiştir.



Şekil 13. Toplam flavonoid madde içeriği kalibrasyon eğrisi

2.5. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Antimikrobiyal duyarlılık araştırmalarında kullanılan ile ateş dikenini meyvesi biyokütlelerinin ve Fe-NP'lerinin antimikrobiyal aktiviteleri Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doęa Bilimleri Fakóltesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü Laboratuvarı'nda standart sıvı dilüsyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

2.5.1. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi İle Ateş dikeninin Meyve Ekstraktının ve Fe-NP'lerin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Ateş dikenini bitkisi meyve özütünün ve demir nanopartiküllerin gram negatif (*Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* ATCC 13315 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC43288,) ve gram pozitif (*Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Bacillus subtilis* ATCC 6633) bakterilere karşı sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK), belirlenmiştir. Bitki özütünün konsantrasyonu 90-0.17 mg/ml, nanopartikül konsantrasyonu ise 60-0.05 mg/ml olarak ayarlanmıştır. Deneyler üç tekrarlı olarak 96 well-plate kullanılarak yapılmıştır. Her kuyucuğa (12. kuyucuk hariç) 50 µl LB besiyeri konulup, 12. kuyucuğa ise 100 µl LB eklenmiştir. Sterilite kontrolünün değerlendirilmesinde ise bu kuyucuk kullanılmıştır. Ayrıca, 11. kuyucuk büyüme (50 µl LB+50 µl bakteri) kontrolü olarak değerlendirilmiştir. İlk kuyucuğa bitki ekstraktı veya nanopartikülün ilk konsantrasyonundan 50 µL alınarak 10. kuyucuğa kadar seri dilüsyon yapılmıştır. Pleytler 37°C'de inkübe edilerek Fe-NP'lerin suşları inhibe ettiği ilk konsantrasyon MİK değeri olarak belirlenmiştir. kontrol olarak ise ampisilin kullanılmıştır (Üçüncü vd., 2020).

3. BULGULAR ve TARTIŞMA

3.1. Ateş Dikeni Meyvesinden Sentezlenen Demir Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

Ateş dikeni meyvelerinin ekstraksiyonu ve bunu takiben uygulanan nanopartikül elde etme çalışmaları neticesinde özellikle gözleme dayalı olarak özellikle de renk değişimi ile (siyaha yakın bir renk oluşumu) demir nanopartiküllerin oluştuğu kanısına varılmıştır.

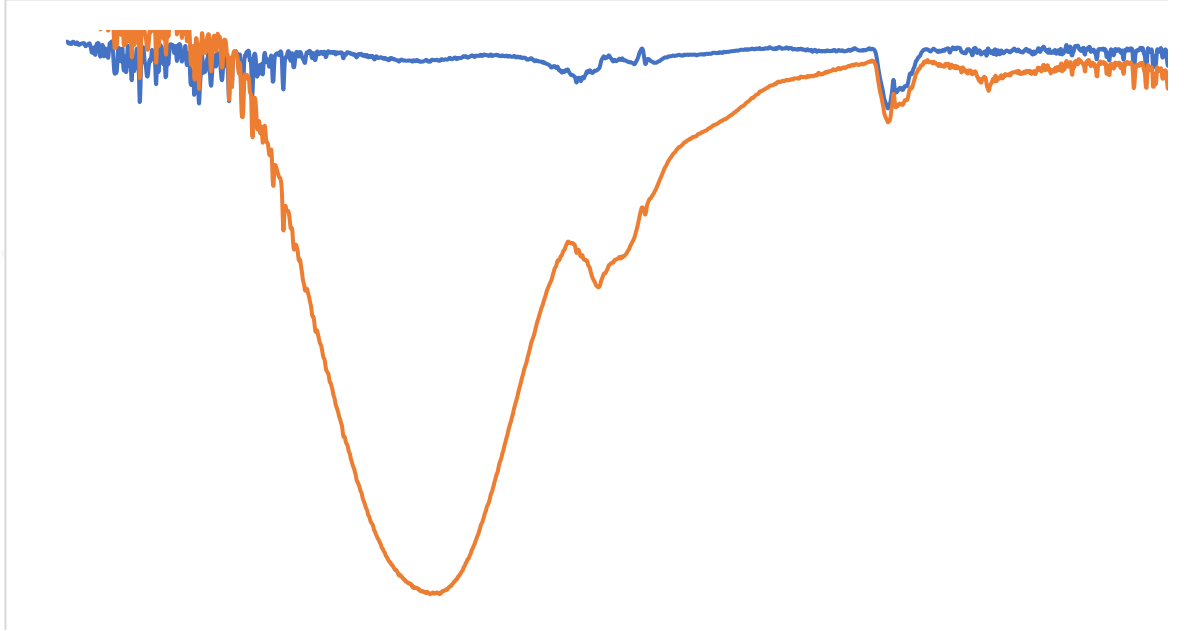
3.1.1. Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi

Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR); ateş dikeni bitkisi meyvelerinden sentezlenen Fe-NP'lerin oluşumundan sorumlu olana muhtemele- olası fenolik bileşikleri tanımlamak için kullanılmıştır. Ateş dikenin bitki meyve ekstraktı ve Fe-NP'lerin FTIR spektrumu FTIR spektrumu Şekil 14-16'da gösterilmiştir.

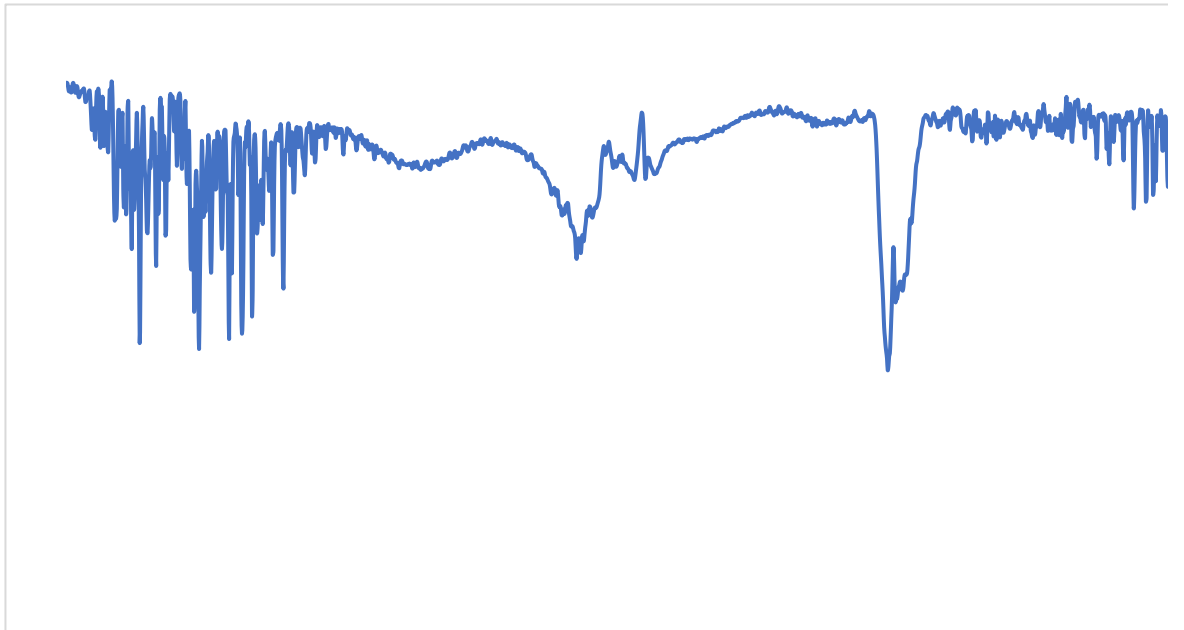
Metal nanopartiküllerin oluşumunda kapaklanma ve indirgeyici özellik gösteren biyomolekülleri tanımlayabilmek amacıyla FTIR analizi gerçekleştirildi. Şekil 14-16'da, demir nanopartiküllerin ve ateş dikeni bitkisine ait su ekstraktının FTIR spektrumları verilmiştir. 650-4000 cm^{-1} aralığında gözlemlenen çeşitli titreşim bantları, demirin indirgenmesinden fonksiyonel grupların sorumlu olduğunu göstermektedir (Şekil 15). C-OH ve H₂O gruplarının O-H germe titreşimleri 3419 cm^{-1} ve 3373 cm^{-1} 'de civarlarında gözlemlendi. 1622 cm^{-1} civarındaki pik c=c gerilimini göstermektedir. Yapıda bulunan karboksili asit gruplarının C-O-C absorpsiyon pikleri 1030 cm^{-1} civarından görülmektedir. 1430 ve 1388 cm^{-1} civarındaki pikler, aromatik yapıya işaret eden polifenolik O-H bükülmesini göstermektedir. 1068 cm^{-1} 'deki pik, alifatik aminleri temsil eden C-N germe titreşiminden dolayı polifenollerin varlığına işaret etmektedir. 2950 cm^{-1} 'deki bant, bitki ekstraktında lipidlerden metil ve metilen gruplarının C-H germe titreşimine karşılık gelmektedir.

C=C (1520–1590 cm^{-1}), C-H (2750–2860 cm^{-1}), O-H (3310–3390 cm^{-1}), N-H (1415–1490 cm^{-1}), C–O–C (1025–1195 cm^{-1}), C-N (2310–2350 cm^{-1}), C=O (1690–1740 cm^{-1}), O-H (1250–1310 cm^{-1} (675–815 cm^{-1}) görülen FTIR sinyalleri yapıdaki aromatik bileşenlere ait işaretleri vermektedir. Spektrumdaki, 870 cm^{-1} ve 668 cm^{-1} 'deki bantlar, CH bükülmesine atfedilir. Üst kısımda da anlatıldığı gibi bitki özütünde bulunan flavonoidlerin ve alkaloidlerin heterosiklik bileşiklerinin tipik bir örneğidir (Alsammarräie vd., 2018)

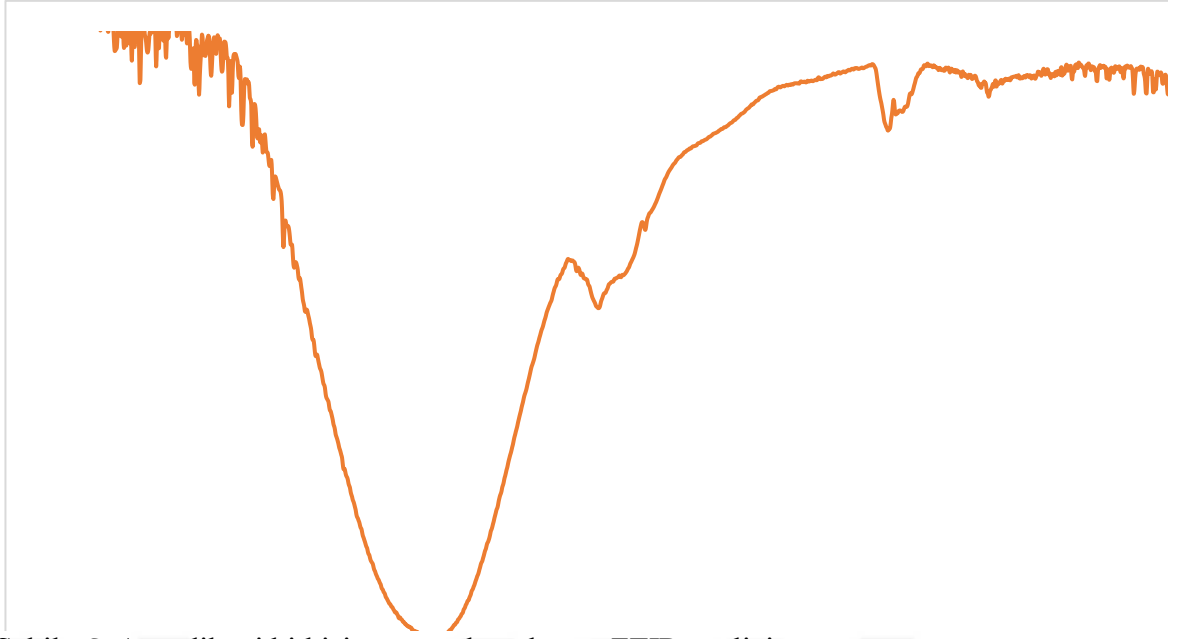
Dolayısıyla hem bitki ekstraktına ait, hemde yeşil sentezle üretilen Fe-NP' nin FTIR spektrumları birbirine bezer özellik göstermektedir. Buda Fe_3O_4 yapısına ateş dikeni bitkisinde bulunan organik yapıların kapaklandığını işaret etmektedir. Fico vd. (2000) ateş dikenini ile alakalı yapmış oldukları bir çalışmada çiçek açan ve meyve veren bitkilerde yaklaşık 30 metabolit bulundu. Hem çiçekler hem de meyveler yüksek flavonoid içeriğine sahip olduklarını ifade etmişlerdir (Fico vd., 2000).



Şekil 14. Ateş dikenii bitkisi meyve ekstraktı ve Fe-NP'lerin FTIR spektrumu



Şekil 15. Ateş dikenii bitkisi meyve Fe-NP'lerinin FTIR analizi

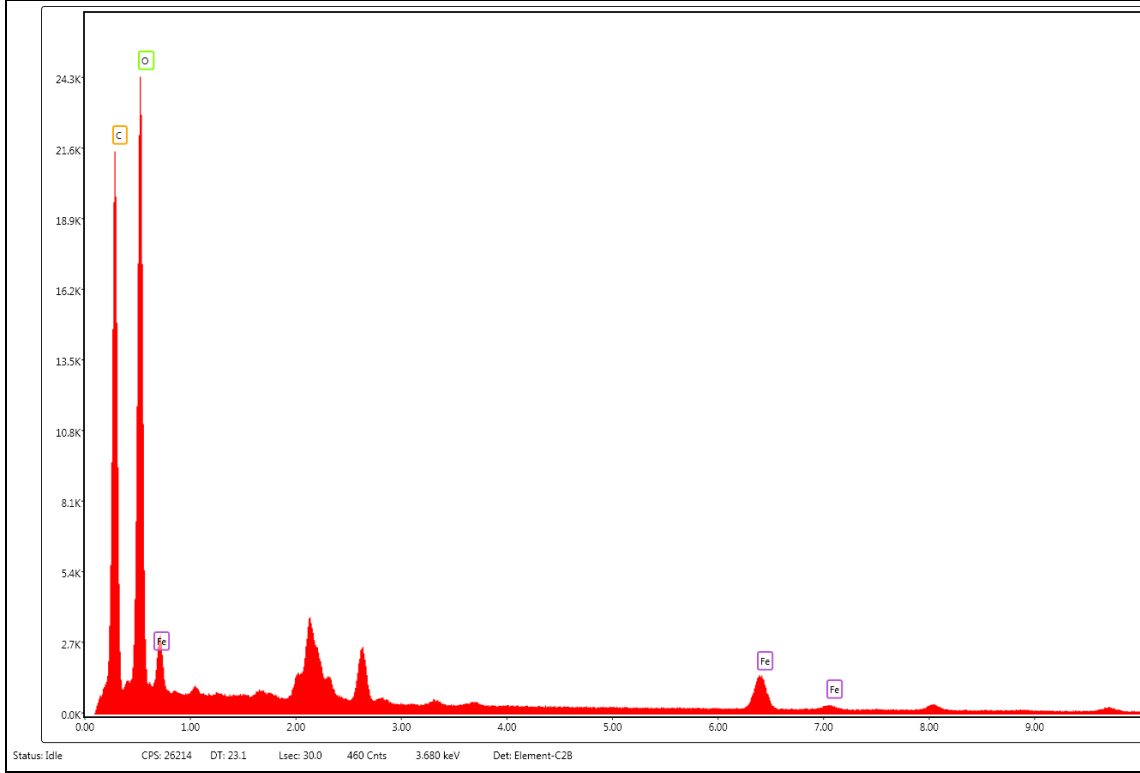


Şekil 16. Ateş dikenii bitkisi meyve ekstraktının FTIR analizi

3.1.2. Demir Nanopartiküllerin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX) Analizi

Taramalı Elektron Mikroskobunda (SEM) enerji dağılımlı X-ışını (EDX) spektroskopisi, özellikleri atomik ölçeğe kadar gösteren element haritaları elde etmek mümkündür. Ateş dikenii bitkisinin meyvelerinden elde edilen ekstraktlar kullanılarak sentezlenen Fe-NP'lerin EDX spektrumları Şekil 17'de ve bunların sayısal değerleri ise Tablo 2'de gösterilmiştir. EDX analizlerinde değerlendirilen elementler demir, karbon ve oksijen elementleridir. EDX spektumlarında piklerin oluştukları yerler her bir elemente özgü olup, elementlerin konsantrasyon değerleri bu piklerin yüksekliğine dayalı olarak hesaplanmıştır. Nanopartiküllerde elementleri tespit edilen yüzde ağırlık oranları oksijen için 47.33, karbon için 38.46 ve demir için 14.21'dir. Karbon, oksijen ve demir atomlarının yüzdelik oranları ise sırası ile 49.92, 46.11 ve 3.97 olarak belirlenmiştir. EDX spektrumları gerekli Fe ve O fazının örneklerde mevcut ve yüksek miktarlarda olması Fe-NP'lerin yüksek saflıkta sentez edildiği doğrulamaktadır. Yüksek yüzdede oksijenin mevcudiyet nanopartiküllerin demir oksit formunda olduğunun bir göstergesi olarak yorumlanabilir (Demirezen vd., 2019). Karbon ve oksijenin varlığı ise organik bileşiklerin mevcuditiyeyine atfedilebilir. Gedikli (2022) siyah çay ve yeşil çaydan ayrı demir nanopartikülleri elde etmiş ve siyah çaydan elde edilen bu demir nanopartiküllerinde demir, karbon ve oksijeni ve %8.62, 40.15 ve 46.85 olarak ölçmüş iken, yeşil çayda ise bu oranları aynı sıra ile %7.41, 41.97 ve 49.31 olarak belirlemiştir. Chatterjee vd., (2021) tarafından yapılan çalışmada pirinç tohumlarında sentezledikleri demir nanopartikülün EDX analizlerinde

demir ve oksijen elementlerinin güçlü sinyal oluşturduğunu bunun da Fe-NP'lerinin sentezlendiğinin bir işareti olduğunun değerlendirmesinde bulunmuşlardır.

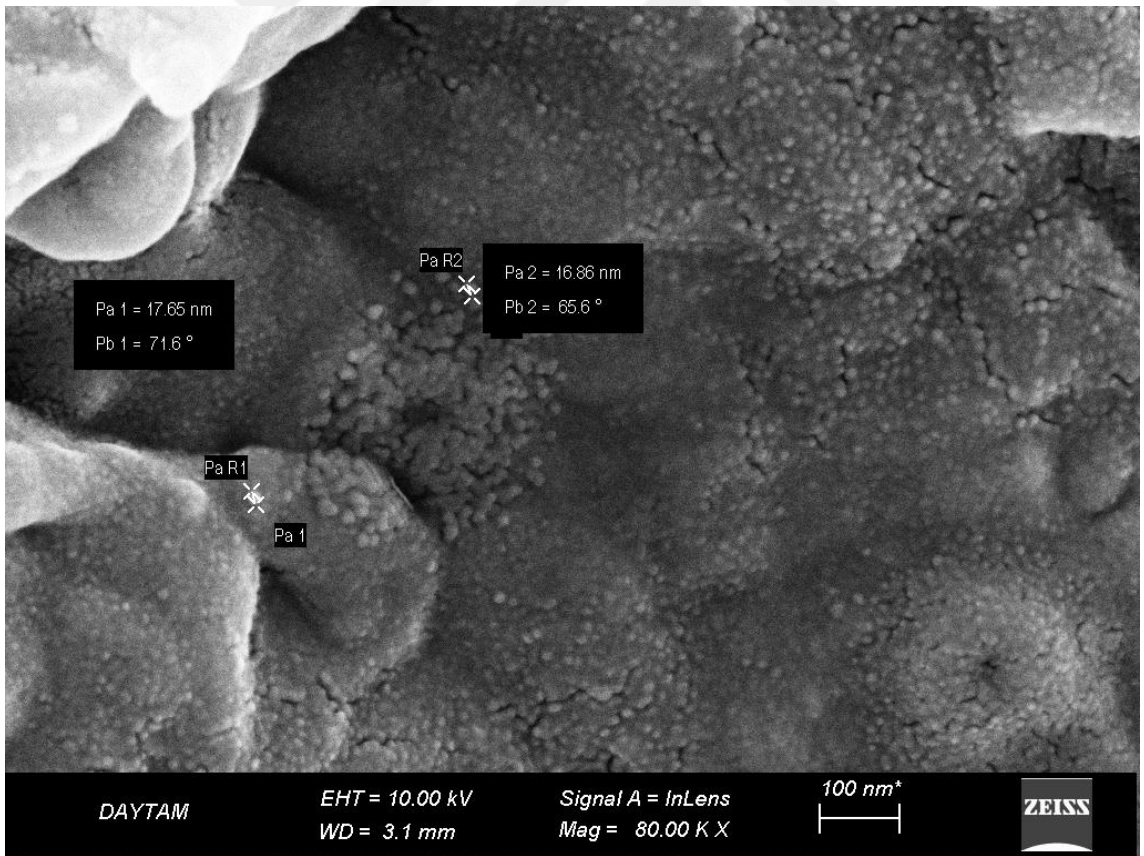
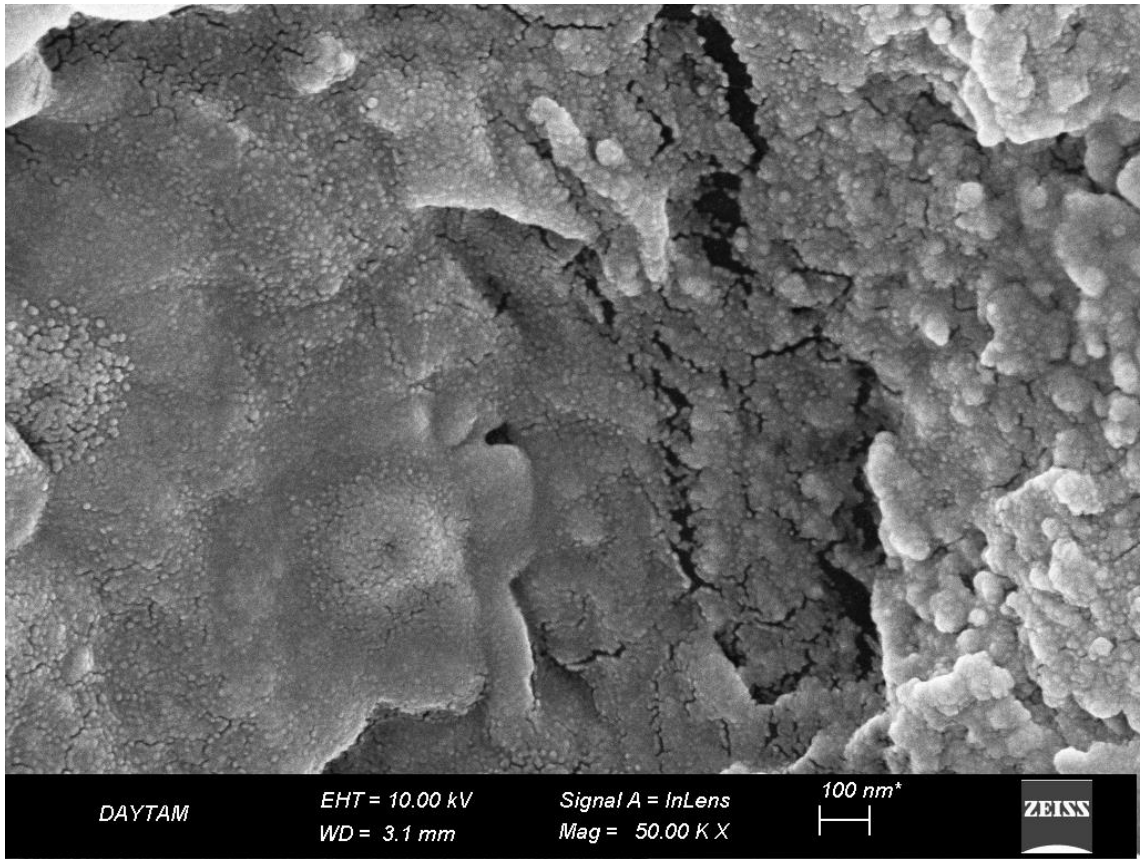


Şekil 17. Ateş diken bitkisi meyvelerinde elde edilen Fe-NP'lerin EDX spektrumları

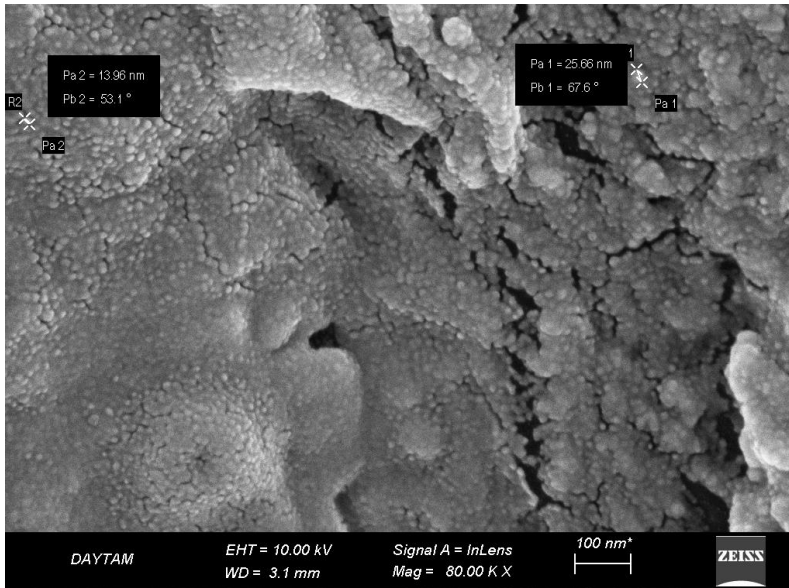
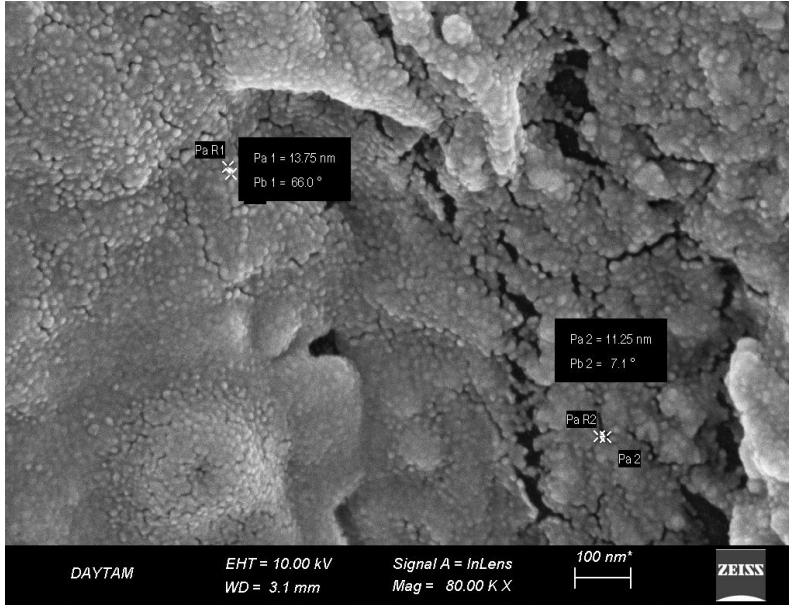
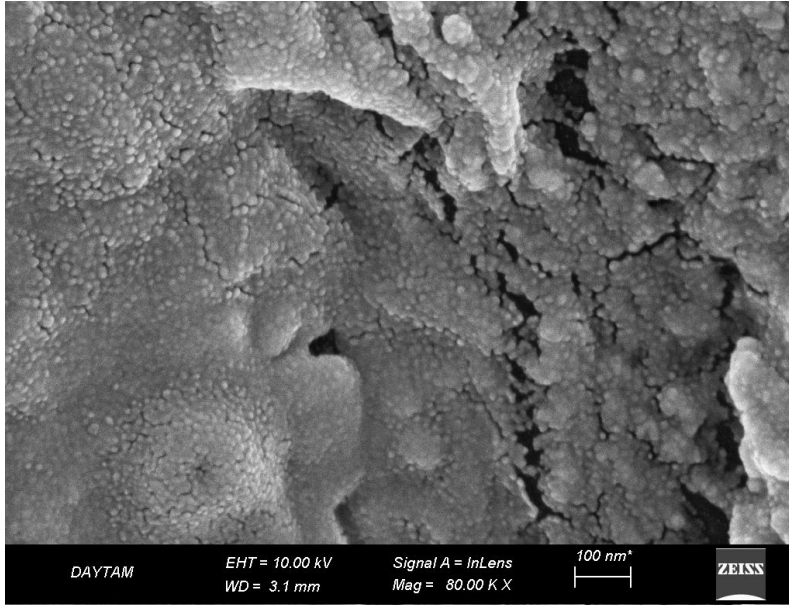
Tablo 2. Ateş diken bitkisi meyvelerinde elde edilen Fe-NP'lerin EDX element değerleri

Element	% Ağırlık	% Atom
C	38.46	49.92
O	47.33	46.11
Fe	14.21	3.97

Ateş diken bitki meyve ekstraktlarından sentezlenen Fe-NP'lerin Taramalı Elektron Mikroskobu kullanılarak elde edilen 50000X ve 80000X büyütmelelerdeki görüntüler Şekil 18-19'da verilmiştir. Fe-NP'lerin görüntülerinde partiküller nano boyutlarda ve küresel yapıda görüntülenmiştir. Şekil 18'de 80000X deki SEM görüntülerinde işaretlenmiş bazı nanopartiküller 11.25, 13.75, 13.96 ve 25.6 nm boyutlarında ölçülmüştür.



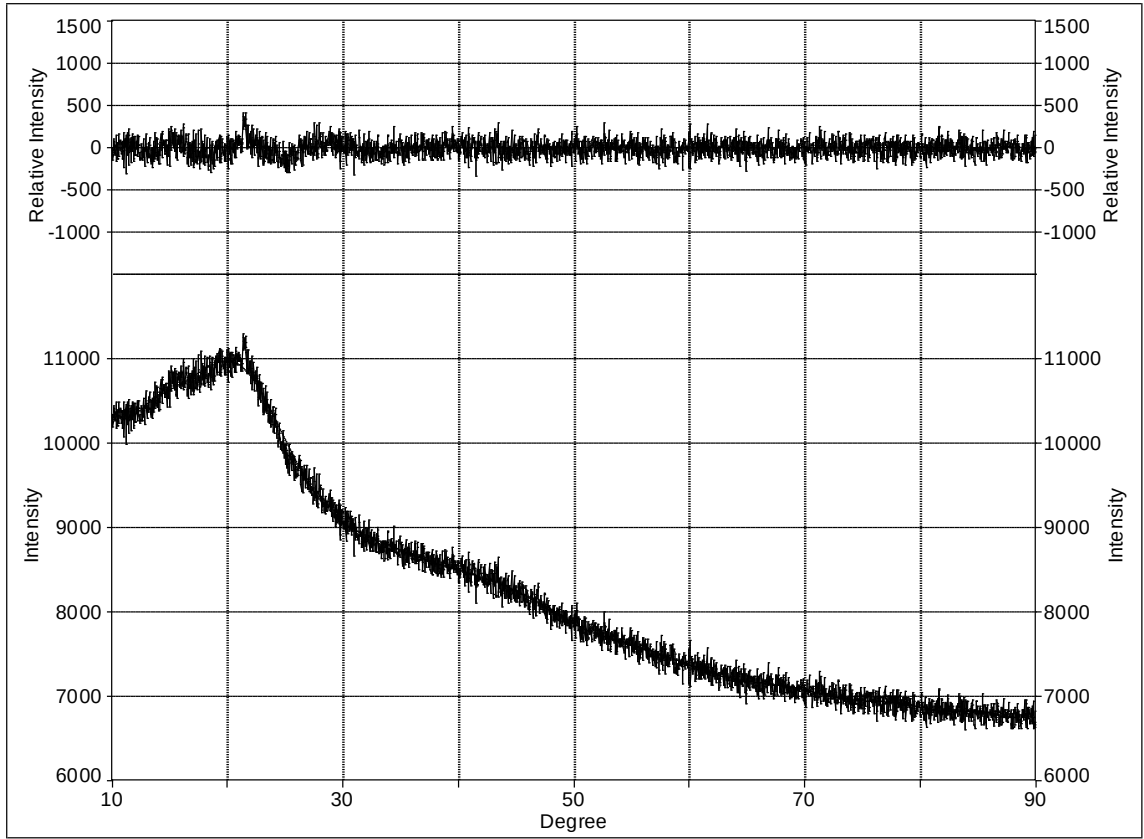
Şekil 18. Ateş dikenii meyvesinden sentezlene Fe-NP'lerin 50000X ve 80000X büyütmede SEM görüntüleri.



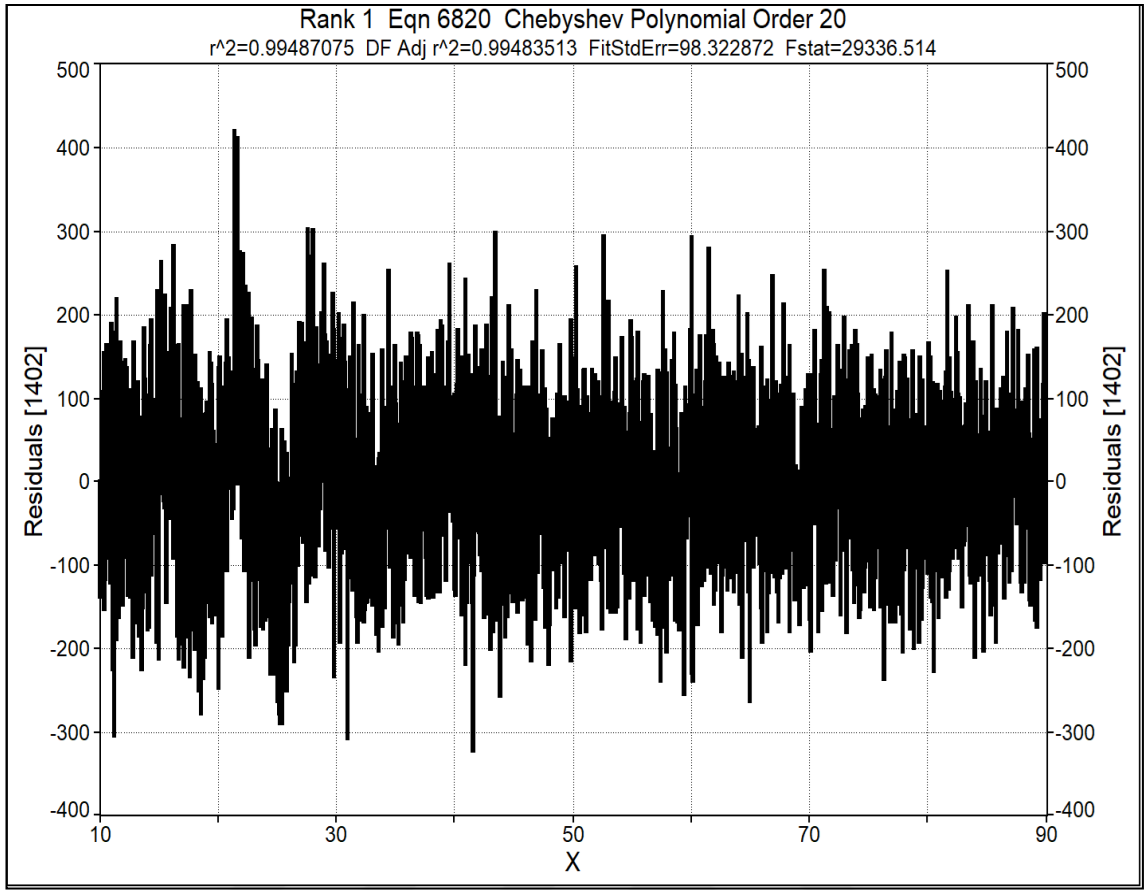
Şekil 19. Ateş dikenli meyvesinden sentezlene Fe-NP'lerin 80000X büyütmede SEM görüntüleri.

3.1.3. X-Işınları Kırınım Kristalografisi (XRD) Analizleri

Yeşil sentezlenmiş Fe_3O_4 NP'ler için X-Işını kırınımı analizi yapıldı. Şekil 20-21'de görülebileceği gibi, XRD sonuçları herhangi belirgin bir pik veya pikler gözlenmemiştir. Piklerin olmaması, üretilen nanopartiküllerin amorf yapısının varlığını göstermektedir (Machado vd., 2014; Wang vd., 2014a; Machado vd., 2015; Ebrahimezhad vd., 2016). Amorf demir nanopartikül yapının varlığı okaliptüs ve sorgum kepeği ve gibi atık veya yaprak özleri ile ilgili önceki çalışmalarda saptanmıştır (Njagi vd., 2011; Wang vd., 2014a; Wang vd., 2014b). 2 Theta değerlerinin 10° ila 20° derece arasındaki geniş omuz aralığı, yaprak ekstraktlarındaki organik materyallerin NP'ler için stabilize edici ajan olarak varlıklarından kaynaklandığı önerilmiştir (Wang 2014; Ebrahimezhad vd., 2016).



Şekil 20. Ateş dikenli bitkisi meyvelerinden sentezlenen Fe-NP'lerin XRD analizi



Şekil 21. Ateş dikenli bitkisi meyvelerinden sentezlenen Fe-NP'lerin XRD analizi

3.2. Antioksidan Aktivite Tayini

Ateş dikenli bitkisinden elde edilen su ekstraktları ile birlikte yeşil sentez ile sentezlenen demir nanopartiküllerin antioksidan aktivite etkinlikleri 6 farklı mekanizmaya sahip antioksidan aktivite belirleme yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir (Tablo 1).

Son zamanlarda ABTS, trolox eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) kullanılarak bileşiklerin toplam antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde çok kullanılan bir yöntem olmuştur. Bu analiz ilk olarak Miller vd., (1993) tarafından tanımlanmıştır ve bir bileşiğin kararlı ABTS radikalini temizleme yeteneğine dayalı olarak toplam radikal temizleme kapasitesini ortaya çıkartır. Antioksidanlarla ABTS'nin reaksiyonu spektrofotometrik olarak 734 nm'de belirlenir. Renk giderme derecesi, TEAC değerlerine dönüştürülebilen antioksidan kapasiteyi vermektedir. Genellikle bitki özleri, içecekler ve biyolojik sıvılar gibi karmaşık antioksidan karışımların taranmasında kullanılır.

Çalışmada ateş dikenli (*Pyracantha coccinea* M.J. Roemer) bitkisinin su ekstraktının ABTS' radikalini temizleme yeteneği TEAC cinsinden değeri Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Ateş dikenini bitkisinin su ekstraktının ve demir nanopartiküllerinin antioksidan kapasiteleri

Analizler	Örnekler	Konsantrasyon mg/kg		Konsantrasyon mg/g	
ABTS ^{•+} Süpürücü Etki	N	7917.28	±0.32	7.92	±0.1
Tayini mg TEAC	N-NP	15834.57x10 ³		15834.57	±197.53
DPPH Serbest radikal temizleme aktivitesi mg AA	N	11469.91	±261.44	11.47	±0.26
	N-NP	15400 x10 ³		15400	±400
DPPH % İnhibisyon	N	91.44	±0.44	91.44	±0.44
	N-NP	94.97	±0.11	94.97	±0.11
FRAP Demir indirgeyici antioksidan güç (mg FeSO ₄)	N	30553.33	±616.67	30.55	±0.62
	Fe-NP	20368.89 x10 ³		20368.89	±411.11
TAC (Toplam Antioksidan Kapasite) (mg AA)	N	14832.35	±6518.22	14.83	±6.52
	Fe-NP	7332.81 x10 ³		7332.81	±945.32
TPC (Toplam fenolik içeriği) (mg AA)	N	11461.98	±218.93	11.46	±0.22
	Fe-NP	5741.67 x10 ³		5741.67	±771.24
TFC (Toplam Flavonoid İçerik) (mg AA)	N	46550	±4746.58	46.55	±4.75
	Fe-NP	8633.33 x10 ³		8633.33	±642.91

N: Numune, Fe-NP: Demir nanopartikül, n:3

Bitkinin radikal giderme derecesi (ABTS) 7917.28 mg/kg TEAC ve 7.92 mg/g TEAC cinsinden bulundu. Üretilen Fe-NP'ların ABTS kapasitesi 15834.57 mg/g TEAC eşdeğeri bulunmuştur. Fe-NP'lerin kapasitesinin çok yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Bitki ile söz konusu bitkiden üretilen Fe-NP'lerin yaklaşık 2000 kat daha yüksek radikal giderme kapasitesine sahip olduğu görülmektedir.

P. coccinea'nın etanol, su, metanol, aseton ve dietil eter ekstraktlarının radikal temizleme potansiyeli ile alakalı bir çalışma gerçekleştirilmiştir (Keser, 2014). Bu çalışmaya göre, etanol, metanol ve aseton ekstraktları, BHT'den daha yüksek ABTS ve DPPH radikal temizleme aktivitesi göstermiştir. Yazar fenolik bileşiklerin varlığı nedeniyle ateş dikeninin iyi bir doğal antioksidan kaynağı olabileceğini iddia etmiştir (Keser, 2014). Yine yapılan bir çalışmada ateş dikeninin taze meyveleri ile ilgili bir çalışmada, ABTS etanol ekstraktı 4.00 su ekstraktı 0.71 mg TEAC/g olarak bulunmuştur (Sarıkurkcu ve Tepe, 2015).

Yaygın olarak kullanılan antioksidan aktivite belirleme yöntemlerinden birisi de DPPH testidir. DPPH radikalının süpürme aktivitesi DPPH antioksidan testinin temelini oluşturmaktadır (Sharma ve Bahat, 2009). DPPH, çözelti içinde kararlı bir radikaldır ve 515-517 nm'de mor renkte görünür. Bu metot, DPPH radikalının antioksidan molekülden bir hidrojen (H) atomunu kabul etmesi prensibine dayanmaktadır. Diğer bir ifadeyle antioksidan tarafından DPPH radikalının stabil DPPH bileşiğine indirger ve mor renk

sarıya döner. Böylelikle renk değişimi spektrofotometrik olarak izlenerek antioksidan aktivite değeri tespit edilir (Mishra vd., 2012; Yogesh vd., 2014). Mevcut çalışmada bitki ekstraktının (N) ve Fe-NP'nin DPPH değerleri sırası ile 11.47 ± 0.26 ve 15400 ± 400 olarak ölçülmüşken, DPPH % inhibisyon değerleri ise 91.44 ± 0.44 ve 94.97 ± 0.11 olarak belirlenmiştir. ABTS metodundan olduğu gibi DPPH metodunda da Fe-NP'nin aktivite değerleri bitki ekstraktından oldukça yüksek çıkmıştır. Sarıkurku ve Tepe (2015) ateş dikenini meyvelerinin etanol ve su ekstraktlarının DPPH değerlerinin sırası ile 6.12 ± 0.292 ve 2.05 ± 0.101 mg TEs/g olarak ölçmüşlerdir. Başka bir çalışmada ise aynı bitkinin etanol (78.73 ± 0.27), su (27.62 ± 0.09), metanol (93.43 ± 0.81), aseton (81.18 ± 0.21) ve dietileter ($7.807.80 \pm 0.190.19$) çözücü ekstraktlarının DPPH % inhibisyon değerleri belirlenmiştir (Keser, 2014). Bu çalışmaların yanı sıra DPPH metodu kullanılarak ateş dikenini bitki meyvelerinin aktivite değerinin belirlenmesi üzerine çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Kerasioti vd., 2019; Tunç vd., 2020; Turu vd., 2020; Sharifi-Rad, 2021).

Antioksidan aktivite yöntemlerinden birisi de Benzie ve Strain (1996) tarafından geliştirilmiş olan FRAP (Demir indirgeyici antioksidan güç) metodudur. Bu yöntem, antioksidan bileşiklerin Fe^{3+} 'yı Fe^{2+} 'ye indirgeme yeteneğine dayalı bir yöntemdir. Flavonoidlerin antioksidan aktivite ilişkilerini değerlendirmek için uygulanan yöntemlerin büyük bir kısmı, bir oksidana karşı kapasitelerini ölçerken, FRAP testi, bir bileşiğin iyi bir antioksidan olması için önemli bir parametre olan maddenin indirgeme kapasitesini doğrudan ölçer (Benzie ve Strain, 1996; Firuzi vd., 2005). Bu özelliklerinden dolayı FRAP testi antioksidan aktivite değerlendirme çalışmalarında yaygın olarak tercih edilmektedir. Ateş dikenini bitki ekstraktlarının ve Fe-NP'lerinin FRAP aktivite değerlerinin spektrofotometrik ölçümlerinde bitki ekstraktları için FRAP değeri 30.55 ± 0.62 mg/g olarak hesaplanmışken, Fe-NP için bu değer 20368.89 ± 411.11 olarak ölçülmüştür. Diğer metotlarda elde edilen sonuçlar gibi burada da Fe-NP'lerin FRAP değerleri bitki ekstraktların göre oldukça yüksek çıkmıştır. Ateş dikenini üzerine yapılan çalışmalarda bitki ekstraktının FRAP değerleri etanol ekstraktında 3.18 ± 0.050 , su ekstraktında 0.73 ± 0.082 (mg TEs/g taze meyve) (Sarıkurku ve Tepe 2015), 6.75 ± 0.52 AAE/g dw (Sharifi-Rad 2021). Ateş dikenini bitkisinin yer aldığı *Pyracantha* cinsi içerisinde sınıflandırılmış olunan Himalaya ateş dikenini (*Pyracantha crenulata* (D.Don) M.Roem.) meyveleri metanol ekstraktının FRAP değeri 5.40 ± 0.05 mm AAE/100g fw (Saklani vd. 2011), *Pyracantha fortuneana* (Maxim.) Li türünün ise su ekstraktlarının FRAP değeri 18.1 ± 0.14 (Fu vd., 2010) olarak belirlenmiştir. Belirtilen çalışmalarda FRAP aktivite değerlerinin yüksek çıkmış olmasına rağmen çalışmamızda elde edilen sonuçlardan ise bu değerler daha düşüktür. Burada yukarıda da belirtildiği üzere aynı tür de bile aktivite değerlerinin farklı

ıkmasında bir çok faktör (genetik çeşitlilik, çevresel faktörler, meyve olgunlaşama zamanları vb.) etkili olmaktadır.

Kullanılan 6 antioksidan aktivite belirleme yöntemlerinden birisi de toplam antioksidan kapasite belirleme yöntemidir. Bu metot, Prieto vd. (1999) tarafından geliştirilmiş olmakla birlikte, analizi yapılacak numunedeki analitler tarafından Mo (VI)'nın Mo(V)'ye indirgenmesine ve bunu takiben asidik pH'ta yeşil bir fosfat/Mo(V) kompleksinin oluşumuna dayanmaktadır. Numunelerin absorbandsı 695 nm ölçülmektedir (Prieto vd., 1999). Toplam antioksidan kapasite yöntemin de Fe-NP'lerin aktivite değerleri kayadadeğer derecede bitki ekstraktlarından daha yk ölçülmüştür. Bitki ekstraktlarında aktivite değerleri 14.83 ± 6.52 mg AA/g olarak ölçülmüşken, Fe-NP'lerde ise bu değer 7332.81 ± 945.32 mg AA/g. Sarıkurkcu ve Tepe (2015) tarafından aynı bitkinin etanol ve su ekstraktlarının toplam antioksidan kapasite değerlerini sırasıyla 6.69 ± 0.744 ve 1.96 ± 0.381 ve Sharifi-Rad vd., (2021) ise 3.97 ± 0.28 mg AAE/g dw olarak rapor etmişlerdir. Bu değerler mevcut çalışmada elde edilen değerlerden daha düşük düzeylerde olmasına rağmen *Pyracantha* genusu içerisinde yer alan *Pyracantha crenulata* türünün metanolik ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarındaki toplam antioksidan kapasite değerleri 18.05 - 66.68 μ M Trolox eşdeğeri aralığında ölçülmüştür (Pal vd. 2013).

Ortak olarak bir veya daha fazla hidroksil sübstitüenti taşıyan bir aromatik halkaya sahip olan fenolik bileşikler antioksidan aktiviteden sorumlu redoks özelliklerine sahip önemli bitki bileşenleridir (Harborne, 1973; Aryal vd., 2019). Sekonder metabolit olarak ta tanımlanan ve oğunlukala sebze ve meyve gibi bitki dokularında bulunan fenolik bileşikler antioksidan aktivite göstermelerinin yanı sıra antimikrobiyal (Akar vd., 2020; Baltacı vd., 2022), antifungal (Simonetti vd., 2020; Possamai Rossatto vd., 2021), antikanser ve antianjiyojenik (Abbaszadeh vd., 2019), antihelmintik (Kaska vd., 2018), antienflamatuar (Demir vd., 2019) gibi aktivteleri gösterdiğine dair çok sayıda çalışma mevcuttur. Özellikle hastalıkların önlenmesinde ve tedavi edilmesinde etkindirler. Bu durumla da dikkate alınarak numunelerin toplam fenolik içerik analizleri de yapılmıştır. Bu analizlerin neticesinde bitki ekstraktlarının aktivite değeri 11.46 ± 0.22 mg AA/g olarak belirlenmişken, Fe-NP için bu değer ise spektrofotometrik ölçümler neticesinde 5741.67 ± 771.24 olarak hesaplanmıştır. Nanopartiküllerin aktivite değerleri bitki ekstraktlarına göre oldukça yüksek düzeyde ölçülmüştür. Ateşi dikenli bitkisi taze meyveleri üzerine yapılan bir çalışmada toplam fenolik içerik değerleri metanol ve su ekstraktlarında nispeten düşük miktarlarda sırasıyla 1.31 ± 0.198 ve 0.38 ± 0.022 mg GAEs/g olarak rapor edilmiştir (Sarıkurkcu ve Tepe, 2015). Diğer bir çalışmada ise aynı tür bitki meyvelerinin metanol ekstraktlarının TPC değerleri 14.48 ± 1.09 ile mevcut çalışmamızda elde edilen

sonuçlardan daha yüksek bulunmuş olmakla birlikte her iki aktivite değerleri arasında kayda değer nitelikte bir fark olmamıştır (Sharifi-Rad vd., 2021).

Değişken fenolik yapıları sahip doğal bileşiklerin bir grubu olan flavonoidler epidemiyolojik çalışmalarda rapor edilen sağlık açısından önemli faydaları nedeniyle özellikle bitkisel kaynaklı (meyvelerde, sebzelerde, tahıllarda, kabukta, köklerde, saplarda, çiçeklerde, çayda ve şarapta bulunur) olanlarının üzerine yapılan araştırmalar her geçen gün artmaktadır (Kumar ve Pandey, 2013; Panche vd. 2016; Karak, 2019). Mevcut çalışmada bitki ekstraktının ve Fe-NP'lerin toplam flavonoid içeriği belirlenmiştir. Alüminyum kompleksi oluşumuna dayalı spektrofotometrik bir metod olan toplam flavonoid içerik en yaygın kullanılan antioksidan aktivite belirleme yöntemlerinden birisi olup, gıda veya tıbbi bitki numunelerini değerlendirmesi için önemli bir parametre olarak kabul edilmektedir (Pekal ve Pyrzynska, 2014). Diğer 5 aktivite belirleme metodunda olduğu gibi Fe-NP'lerin aktivite değeri (8633.33 ± 642.91) bitki ekstraktının aktivite değerinden (46.55 ± 4.75) kayda değer bir biçimde yüksek ölçülmüştür. Sarıkurku ve Tepe (2015) ateş dikenini taze meyvesinde etanol ve su ekstraktı toplam flavonoid içerik değerlerini sırasıyla 0.22 ± 0.014 ve 0.03 ± 0.002 mg REs/g olarak rapor etmişlerdir. Sharifi-Rad vd. (2021) aynı bitkinin meyvelerinin metanol ekstraktlarında 0.13 ± 0.01 mg QE/g olarak hesaplamıştır.

Literatürde yapılan çalışmalarda ateş dikenini meyvesinin yüksek antioksidan aktivite gösterdiği ortaya konulmuş olmakla birlikte aktivite değerleri arasında farklılıklar söz konusudur. Bu farklılıklar bitki ekstraksiyonundan kullanılan çözücülerin farklı olması bireysel genetik çeşitlilik, farklı bitki parçaları arasındaki varyasyonlar, bitkilerin farklı gelişim aşamaları, meyvenin ya da kurutulmuş olarak çalışılması ve çevresel değişiklikler (toprak, su, hava, sıcaklık, pH, ışık, kirlilik faktörleri vb.) gibi bitkilerin kimyasal bileşimini etkileyen bazı faktörler ile ilişkilendirilebilir (Figueiredo vd., 2008; Akar, 2021).

Antioksidan aktivite belirleme yöntemlerinin uygulandığı çalışmalarda genelde Fe-NP'lerin antioksidan aktivite değerleri bitki ekstraktlarından elde edilen değerlerden oldukça yüksek çıkmaktadır. Bu durum bitki özütünde bulunan biyoaktif bileşikler alkaloidler, flavonoidler, tanenler, fenoller ve saponinler gibi organik yapıdaki bileşiklerin Fe₃O₄ etrafına yoğun biçimde bağ yapmalarından kaynaklanmaktadır (Mahendiran vd., 2017; Rehana vd., 2017). Vitta vd., (2020) tarafından yapılan çalışmada *Eucalyptus robusta* Sm bitkisinin yaprak ekstraktları ve bu ekstraktlardan elde edilen Fe-NP'lerin antioksidan aktivitelerini DPPH, TPC ve TFC antioksidan aktivite belirleme yöntemlerini kullanarak belirlemiştir. DPPH temizleme aktivitesini *E. robusta* bitki ekstraktında IC₅₀ değerini 423.14 µg/mL Fe-NP'de ise 81.63 µg/mL ve standart kuersetinde ise 7.19 µg/mL

olarak rapor etmişlerdir. Bu testte standarttan da anlaşılacağı üzere düşük değer daha yüksek aktiviteyi işaret etmektedir. Aynı çalışmada ise TPC (bitki ekstraktında 158.47 mg GAE /g, Fe-NP'de 98.21 mg GAE /g) ve TFC (bitki ekstraktında 131.12 mg QE /g; Fe-NP'de 40.54 mg QE /g) için elde edilen değerler ise bitki yaprak ekstraktında Fe-NP'ye göre daha yüksek çıkmıştır. Vitta vd., (2020) bu durumun FeNP'lerin biyosentezinde yer alan bir indirgeme reaksiyonunda bu bileşiklerin katılımı ile açıklanabileceğini ve bununla birlikte, FeNP'lerde fenolik bileşiklerin varlığı ise, bu bileşiklerden bazılarının indirgenmediğini ve nanopartiküllerin stabilizasyonunda etkileşime girebilmiş olması ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

3.3. Antimikrobiyal Aktivite

Popülasyonlarının dinamik yapısını önemli derecede etkileyen olumsuzluklarının başında mikrobiyal kökenli enfeksiyonlar gelmektedir. Bu enfeksiyonlar özellikle insanlar açısından değerlendirildiğinde dünya çapında milyonlarca insanı etkileyen salgınlara dönüşebilme potansiyeline haizdirler ve tarihsel süreçte de bu tür salgınlar vuku bulmuştur. Çoğunlukla bu salgınların ortaya çıkmasında insan popülasyonunun hızla artışı, savaşlar, doğal afetler (iklimsel değişiklikler, depremler, büyük heyelanlar, besin ve su kıtlığı) çevre kirliliği ve barınma sorunları, salgınların ortaya çıkmasında etkin faktörler olup, özellikle son yüzyılda ulaşımdaki hız da mikroorganizmaları yayılımını artırmaktadır (Parıldar, 2020). Bazı durumlarda salgında etkili olan mikroorganizmalara özellikle de virüslere karşı etkin tedavi yollarının bulunması oldukça zor olabilmektedir. Son yıllarda, oldukça yüksek tehlike riskine sahip olan antibiyotiğe dirençli bakterilerin varlığı giderek artış göstermektedir (Fair ve Tor, 2014). Bu nedenle, mikrobiyal dirençle mücadele etmek için çeşitli kaynaklardan yeni antimikrobiyal ajanların araştırılmasına ve geliştirilmesine artan bir ilgi olmuştur. Antimikrobiyal aktivite tarama ve değerlendirme yöntemlerine daha fazla önem verilmektedir Disk difüzyon, kuyu difüzyonu ve broth veya agar seyreltme gibi çeşitli biyoaktivite yöntemleri yaygın olarak kullanılmakla beraber flow sitometrisi ve biyoluminesans yöntemleri de kullanılabilmektedir (Balouiri vd., 2016). Antimikrobiyal aktivite tarama yöntemlerinin geliştirilmesinin yanı sıra mevcut antibiyotiklerin yeterlilikleri hakkında ciddi tereddütler olması yeni etkili kaynaklara ve prosedürlere yönelme gerekliliği ortaya çıkmıştır. Çeşitli endüstriyel uygulamalardaki kullanımlarından dolayı, nanoparçacıklar (NP'ler), bakteriyel ve viral enfeksiyonlara karşı antimikrobiyal ajanlar olarak umut verici bir potansiyel sunmaktadır. NP'lerin, benzersiz özellikleri ve çeşitli mekanizmalar yoluyla hücreye zarar verme yetenekleri nedeniyle çeşitli patojen türlerine karşı güçlü antimikrobiyal aktivitelere sahip olduğu tespit edilmiştir (Rosli vd., 2021).

Hastalıkların tedavi süreçleri için antibiyotik dağıtım sistemlerinde, enfeksiyonun oluşumunu önlemek ve yaraların tedavi edilmesini destekleyen implante edilebilir nitelikteki cihazların ve tıbbi malzemelerin antibakteriyel kaplanması, mikrobiyal teşhis oluşturmak için bakteriyel tespit sistemlerinde, antibakteriyel aşılar ve bakteriyel enfeksiyonları kontrol etmek için NP'lerin kullanılmaktadır (Wang vd., 2017). Bu çalışma kapsamında kullanılan Ateş diken bitkisinin su ekstraktı hazırlanmış ve elde edilen ekstrakt kullanılarak yeşil sentezle Fe-NP'leri elde edilmiştir. Bitki ekstraktının ve Fe-NP'lerin antibakteriyel etkisi 7 farklı izolat kullanılarak değerlendirilmiştir. *Bacillus subtilis* hemen hemen her çevrede bulunan gram pozitif, aerobik, spor oluşturan bir toprak bakterisidir (Oggioni vd., 1998). Aynı zamanda insan gastrointestinal sisteminde de bulunana ve zararlı olmayan bir bakteri kabul edilir. Ancak, yenidoğan döneminde sık görülen immün yetmezlik durumlarında, *B. subtilis* ciddi bir enfeksiyona yol açabilmekte (Lampropoulos vd., 2021). Ek olarak, *B. subtilis* birçok kez insan için patojenik olarak tanımlanmıştır, ancak bu patojenide her zaman gözle bağlantılıdır (Sweany ve Pinner, 1925; Abo-State vd., 2012).

Antimikrobiyal aktivite belirleme çalışmasında kullanılan diğer bir bakteri türü ise *Staphylococcus aureus* türüdür. Gram pozitif bir bakteri türü *Staphylococcus aureus*'un insanlardaki doğal yaşam alanı deri ve nazofarenkstir. Klinik olarak tanımlanmış çok sayıda hastalığa neden olmaktadır. Özellikle deri ve yumuşak dokuları, endovasküler bölgeleri ve iç organları tutarak farklı enfeksiyonlara neden olmaktadır. *S. aureus* toplumda ve hastanelerde yüksek morbidite ve mortaliteye neden olan önemli bir patojen olmaya devam etmektedir (Foster, 2002; Taylor ve Unakal, 2022). Burada, *S. aureus*'un patojenitesinde salgılanan ekzotoksinlerin önemli bir rolü vardır. Pek çok *S. aureus* toksini hücre membranlarına zarar vererek hücre ölümüne yol açar (Otto, 2014). Özellikle *S. aureus*'un neredeyse tüm suşları alfa, beta, gama hemolizinlerini, nükleazları, proteazları, lipazları, hiyalüronidazı ve kolajenazı içeren bir grup enzim ve sitotoksin salgılar. Bu proteinlerin ana işlevi, yerel konakçı dokuları bakteriyel büyüme için gerekli besine dönüştürmek olabilir. Bazı suşlar, toksik şok sendromu toksin-1 (TSST-1), stafilokokal enterotoksinler, eksfoliyatif toksinler (ETA) dahil olmak üzere bir veya daha fazla ek ekzoprotein üretir ve lökositin üretir (Dinges vd., 2000).

S. aureus'un yanı sıra enfeksiyonların diğer bir kaynağı da *Streptococcus pyogenes* bakterisi türüdür. *S. pyogenes* katalaz negatif, gram pozitif, β -hemolitik bir streptokoktur. Farklı M-protein tiplerine dayalı olarak 150'den fazla farklı suş tanımlanmıştır. β -hemolitik suşların Lancefield tiplendirmesine göre karbonhidrat yapısına göre A grubu bir streptokoktur (Bryant ve Stevens, 2016). Bu bakteri oluşturduğu enfeksiyonlar nedeniyle

ciddi sayılabilecek hastalıkların nedeni olarak gösterilmektedir. Örneğin hafif deri/yumuşak doku enfeksiyonları ve farenjitten bakteriyemi, selülit, lohusalık sepsisi, menenjit, pnömoni ve nekrotizan fasiit gibi daha ciddi hastalıklara kadar çok çeşitli klinik belirtilerden sorumludur (Lamagni vd., 2008; Naz vd., 2020).

Çalışmada değerlendirilen izolatlardan birisi de literatürde üzerine çok sayıda çalışma gerçekleştirilmiş olan *Escherichia coli* izolatıdır. *Escherichia coli*, Enterobacteriaceae familyası içinde yer alan *Escherichia* cinsine ait 7 türden birisi olup, spor oluşturmeyen hücre duvar yapısı gram negatif olan ve hareketli basillerdir ve insan bağırsağının florasında baskın patojenik olmayan fakültatif bir bakteridir (Nataro ve Kaper, 1998; Omerovic vd., 2017). *Escherichia coli* en az altı farklı patojen tipi mevcuttur, ishal veya dizanteri gibi enterik hastalığa neden olur ve diğer patotipler, idrar yolu enfeksiyonları ve menenjit dahil olmak üzere bağırsak harici enfeksiyonlara neden olmaktadır (Kaper vd., 2004).

Tatlı su ve deniz ortamlarının yaygın olarak bulunan gram negatif *Pseudomonas* cinsi fırsatçı patojenler olarak değerlendirilmekle birlikte ve hastane enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Hastane enfeksiyonlarına oluşumunda ilk sıralarda yer alan *Pseudomonas aeruginosa* etkenleri içinde ilk antibiyotik direnci geliştiren buna bağlı olarak ta yüksek morbidite ve mortalite oranına sahiptir (Michel-Briand ve Baysse, 2002; Gül vd., 2004).

Mevcut çalışmada ateş diken bitkisi meyve ekstraktının ve Fe-NP'lerinin antimikrobiyal etkinliğinin araştırıldığı diğer bir tür ise *Proteus vulgaris* türüdür. Enterobacteriaceae familyasının bir üyesi olan *Proteus* cinsi içerisinde yer alan oksidatif negatif, spor oluşturmeyen, kapsülsüz, gram negatif, çubuk şeklinde bir bakteri olan *Proteus vulgaris* hayvanların bağırsaklarında ve aynı zamanda kirli su, toprak ve gübre dahil olmak üzere doğal ortamda yaygın olarak bulunurlar (KishanRaj vd., 2021). İnsanlar için patojen olan türlerinden biridir. Özellikle yaraların enfekte olmasında başlıca rol oynayan mikroorganizmalar arasında yer almaktadır (Mordi ve Momoh, 2009).

Enterobacteriaceae familyası içerisinde yer alan *Yersinia* cinsi 11 tür içermekle birlikte sadece *Yersinia pseudotuberculosis* türünün de aralarında yer aldığı 3 türün insanlar için patojen olduğu bilinmektedir (Motarjemi vd., 2013). *Y. pseudotuberculosis* küçük, gram negatif, aerobik ve fakültatif anaerobik bir kokobasildir (Buffenstein vd., 2012). Bu bakteri gastrointestinal enfeksiyonlara neden olur. Enfeksiyon, Enfekte insan ve hayvanların bağırsaklarından mezenterik lenf düğümlerine (MLN'ler), dalak ve karaciğere yayılarak etkili olur (He vd., 2019).

Bu çalışma kapsamında kullanılan Ateş dikenini bitkisi meyvesinin su ekstraktı hazırlanmış ve elde edilen ekstrakt kullanılarak yeşil sentezle ile Fe-NP'leri elde edilmiştir. Bitki ekstraktının ve Fe-NP'lerin antibakteriyal etkisi 7 farklı izolat kullanılarak değerlendirilmiştir. Bitki özütünün *S. pyogenes* ve *P. aeruginosa*, suşlarına karşı MİK değerinin 20 mg/mL, *S. aureus*, *P. vulgaris* e karşı MİK değerinin 40 mg/mL ve MİK değerinin *E.coli* için 10 mg/mL, *Y. pseudotuberculosis* için 1.25 mg/mL ve *B. subtilis* için 5 mg/mL olduğu tespit edildi (Tablo 4). Bitki özütü kullanılarak elde edilen Fe-NP'lerin MİK değerinin *S. pyogenes*, *B. subtilis*, *P. vulgaris* *E. coli*, *Y. pseudotuberculosis* ve *S.aureus* için 0.75 mg/mL olarak belirlendi. Fe-NP'lerin *P. aeruginosa* karşı MİK değerinin ise 0.375 mg/ml olduğu görüldü (Tablo 3).

Fe-NP'lerinin antimikrobiyal aktivitesi bitki özütünün antimikrobiyal aktivitesi ile karşılaştırıldığında, Fe-NP'lerin bitki özütüne göre *P. aeruginosa*, , *S. aureus* ve *P. vulgaris* üzerinde 53, *S. pyogenes* üzerinde 27, *E.coli* üzerinde 13 kat daha fazla aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Bitki özütünün ve Fe-NP'lerin *Y. pseudotuberculosis* ve *B. subtilis*'e izolatlarına karşı 7 ve 1.7 kat daha fazla antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. Bitki özütü en yüksek aktiviteyi *Y. pseudotuberculosis*'e karşı göstermiştir. Fe-NP ise *P. aeruginosa* suşuna karşı en yüksek aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4. Ateş dikenini ekstraktı ve Fe-NP'lerin antimikrobiyal aktivitesi

Bakteri	Bitki Ekstraktı MİK (mg/mL)	Fe-NP MİK (mg/mL)
<i>B. subtilis</i>	5	0.75
<i>S. aureus</i>	40	0.75
<i>S. pyogenes</i>	20	0.75
<i>E. coli</i>	10	0.75
<i>P. aeruginosa</i>	20	0.375
<i>P. vulgaris</i>	40	0.75
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	1.25	0.75

Literatürde farklı bitki ekstraktları kullanılarak elde edilen Fe-NP'lerin antimikrobiyal aktivitelerini belirlenmesi üzerine çalışmalar gerçekleştirilmiş olup onların yüksek aktivite gösterdiğine dair bulgular rapor edilmiştir. Vitta vd., (2020) tarafından *Eucalyptus robusta* Sm türünün yapraklarından elde edilen sulu ekstraktları ve bu ekstraktlardan elde edilen Fe-NP'lerin antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiş ve *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *B. subtilis* türlerine karşı Fe-NP'ler bitki ekstraktına göre daha yüksek aktivite göstermiştir. *E. coli* için bitki ekstraktının oluşturduğu inhibisyon zonu 1.10 mm iken bu değer demir nanopartikülde 1.75 mm, *S. aureus* için ekstrakta 1.15 mm, demir nanopartikülde 1.90 mm, *P. aeruginosa* için ekstrakta 0.45 mm, demir

nanopartikülde 1.00 mm, *B. subtilis* için ekstrakta 3.60 mm, demir nanopartikülde 5.05 mm olarak belirlenmiştir.



4. SONUÇ VE DEĞERLENDİRME

Ateş diken bitkisinin meyvesinden elde edilen ekstralardan Fe-NP'leri sentezlenmiştir. Sentezlenen nanopartiküllerin SEM görüntülerinde 100 nm'den küçük oldukları tespit edilmiştir. Bu durum demir nanopartiküllerinin sentez edildiğinin bir göstergesi olarak değerlendirilir. EDX spektrumları gerekli Fe ve O fazının örneklerde mevcut ve yüksek miktarlarda olması Fe-NP'lerin yüksek saflıkta sentez edildiği doğrulamıştır. Sentezlenen nanopartiküllerin XRD spektrumlarının analizlerinde amorf yapı gösterdikleri belirlenmiştir. FT-IR absorban spektrumları ile polifenollerin Fe-NP'lerin sentezinde yer aldığı doğrulanmıştır. Fe NP'leri ile birlikte meyve ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri 6 farklı metot (ABTS^{•+} süpürücü etki tayini, DPPH serbest radikal temizleme aktivitesi, FRAP demir indirgeyici antioksidan güç, toplam antioksidan kapasite, toplam fenolik içerik, toplam flavonoid içerik) uygulanarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlarda, Fe-NP'ler meyve ekstraktına kıyasla daha yüksek düzeyde antioksidan aktivite göstermiştir. Ateş diken bitkisi meyvesinin su ekstraktı hazırlanmış ve elde edilen ekstrakt kullanılarak yeşil sentezle ile Fe-NP'leri elde edilmiştir. Bitki ekstraktının ve Fe-NP'lerin antibakteriyel etkisi 7 farklı izolat (*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615) ve gram negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC43288, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911) kullanılarak değerlendirilmiş ve Fe-NP'ler meyve ekstraktına kıyasla daha yüksek düzeyde antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu nedenle, ateş diken bitkisinin meyvelerinin sulu ekstraktları kullanılarak sentezlenen Fe-NP'ler hem antioksidan aktivite hem de bakterilere karşı antibakteriyel potansiyele sahip olmaları onların toksik olmayan ve çevre dostu bir yaklaşımda kullanılabileceğini göstermektedir.

KAYNAKÇA

- Abbaszadeh, H., Keikhaei, B. ve Mottaghi, S. (2019). A review of molecular mechanisms involved in anticancer and antiangiogenic effects of natural polyphenolic compounds. *Phytotherapy Research*, 33(8), 2002-2014. <https://doi.org/10.1002/ptr.6403>
- Abid, N., Khan, A. M., Shujait, S., Chaudhary, K., Ikram, M., Imran, M., ... ve Maqbool, M. (2021). Synthesis of nanomaterials using various top-down and bottom-up approaches, influencing factors, advantages, and disadvantages: A review. *Advances In Colloid And Interface Science*, 102597. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2021.102597>
- Abo-State, M., Hussein, S. M., Helimish, F. A. ve Zickry, A.R.A. (2012). Contamination of Eye Drops with Bacillus Species and Evaluation of Their Virulence Factors. *World Applied Sciences Journal* 19 (6): 847-855,.
- Ahmed, D., M.M. Khan, ve Saeed R. (2015). Comparative analysis of phenolics, flavonoids, and antioxidant and antibacterial potential of methanolic, hexanic and aqueous extracts from adiantum caudatum leaves. *Antioxidants*, 4(2), 394–409. <https://doi.org/10.3390/antiox4020394>
- Akar, Z. (2021). Chemical compositions by using LC–MS/MS and GC–MS and antioxidant activities of methanolic extracts from leaf and flower parts of Scabiosa columbaria subsp. columbaria var. Columbaria L. *Saudi Journal Of Biological Sciences*, 28(11), 6639-6644. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.07.039>
- Akar, Z., Karakurt, A., Okumuş, F., Cinemre, S., Düzgün, A. Ö., Akar, B. ve Can, Z. (2020). RP-HPLC-UV Analysis of the Phenolic Compounds, Antimicrobial Activity Against Multi-Drug Resistant Bacteria and Antioxidant Activity of Fruit and Seed of Diospyros lotus L. *International Journal Of Secondary Metabolite*, 7(4), 237-246. <https://doi.org/10.21448/ijsm.714108>
- Alsammarraie, F.K., Wang, W., Zhou, P., Mustapha, A. ve Lin, M. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using turmeric extracts and investigation of their antibacterial activities. *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, 171, 398-405. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.07.059>
- Arıdur, R. (2013). *Bazı şifalı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi*. Yayımlanmamış yüksek lisans tezi, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Sakarya.

- Aryal, S., Baniya, M. K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R. ve Koirala, N. (2019). Total phenolic content, flavonoid content and antioxidant potential of wild vegetables from Western Nepal. *Plants*, 8(4), 96. <https://doi.org/10.3390/plants8040096>
- Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, U., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., Savran, E. Ş. ve Yılmaz, B. (2019). Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü- Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX). *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(3), 362-369. <https://doi.org/10.17343/sdutfd.566969>
- Ateş, H. ve Bahçeci, E. (2015). Nano malzemeler için üretim yöntemleri. *Gazi University Journal Of Science Part C: Design And Technology*, 3(2), 483-499.
- Balouiri, M., Sadiki, M. ve Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity:A review. *Journal Of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Baltacı, C., Öz, M., Fidan, M. S., Üçüncü, O. ve Merve, Ş. (2022). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of Colchicum speciosum Steven growing in Türkiye. *Pak. J. Agri. Sci*, 59(5), 729-736. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Baran, M. F. (2019). Prunus avium kiraz yaprağı özütü ile gümüş nanopartikül (AgNP) sentezi ve antimikrobiyal etkisinin incelenmesi. *Dicle Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Dergisi*, 10(1), 221-227. <https://doi.org/10.24012/dumf.487255>
- Bayram, S. E., Özeker, E. ve Elmacı, Ö. L. (2013). Fonksiyonel gıdalar ve çilek. *Akademik Gıda*, 11(2), 131-137.
- Bedlovičová, Z., Strapáč, I., Baláž, M. ve Salayová, A. (2020). A brief overview on antioxidant activity determination of silver nanoparticles. *Molecules*, 25(14), 3191. <https://doi.org/10.3390/molecules25143191>
- Benzie, I.F. ve Strain J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal Biochem*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Beykaya ve Çağlar, A. (2016). Bitkisel özütler kullanılarak gümüş-nanopartikül (AgNP) sentezlenmesi ve antimikrobiyal etkinlikleri üzerine bir araştırma. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(3), 631-641.
- Bizimbitkiler. (2022).Pyracantha. 17 Aralık 2022 tarihinde. <<http://www.bizimbitkiler.org.tr>>, adresinden erişilmiştir.

- Brand-Williams, W., M.E., Cuvelier ve C.L.W.T. Berset, (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci Tech*, 28(1), , 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Bryant Amy E. ve Stevens Dennis L. (2016). In Bennett, J. E., Dolin, R., & Blaser, M. J. Mandell, Douglas and Bennett's Infectious Disease Essentials E-Book. *Elsevier Health Sciences*.
- Buffenstein, R., Park, T., Hanes, M. ve Artwohl, J. E.(Der.). (2012). *Naked mole rat*. In *The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents*.Academic Press. (pp. 1055-1074). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-380920-9.00045-6>
- Bunaciu, A. A., Danet, A. F., Fleschin, Ş. ve Aboul-Enein, H. Y. (2016). Recent applications for in vitro antioxidant activity assay. *Critical Reviews In Analytical Chemistry*, 46(5), 389-399. <https://doi.org/10.1080/10408347.2015.1101369>
- Chatterjee, A., Mridha, D., Banerjee, J., Chanda, S., Ray, K., Acharya, K., ... ve Sarkar, J. (2021). Green synthesis of iron oxide nanoparticles and their ameliorative effect on arsenic stress relief in *Oryza sativa* seedlings. *Biocatalysis And Agricultural Biotechnology*, 38, 102207. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102207>
- Çelik, E. ve Çelik, G. Y. (2007). Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 5(2), 1-6.
- Çiftçi, H., Çalışkan, Ç. E., Öztürk, K. ve Yazıcı, B. (2021). Yeşil yöntemle sentezlenen biyoaktif nanopartiküller. *Black Sea Journal Of Engineering And Science*, 4(1), 29-42. <https://doi.org/10.34248/bsengineering.816084>
- Çiftçi, N. (2017). Oksidatif Stresin Kanserdeki Rolü: Antioksidanlar Kansere Progresyonunun Yakıtı Olabilir mi. *Ahi Evran Tıp Dergisi*, 1, 8-13.
- Demir, T., AKPINAR, Ö., Haki, K. A. R. A. ve Güngör, H. (2019). Nar (*Punica granatum* L.) kabuğunun in vitro antidiyabetik, antienflamatuvar, sitotoksik, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi. *Akademik Gıda*, 17(1), 61-71. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.544647>
- Demirezen, D. A., Yıldız, Y. Ş., Yılmaz, Ş. ve Yılmaz, D. D. (2019). Green synthesis and characterization of iron oxide nanoparticles using *Ficus carica* (common fig) dried fruit extract. *Journal Of Bioscience And Bioengineering*, 127(2), 241-245. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.07.024>
- Dinges, M. M., Orwin, P. M. ve Schlievert, P. M. (2000). Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology Reviews*, 13(1), 16-34. <https://doi.org/10.1128/CMR.13.1.16>

- Dizaj, S. M., Lotfipour, F., Barzegar-Jalali, M., Zarrintan, M. H. ve Adibkia, K. (2014). Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles. *Materials Science And Engineering: C*, 44, 278-284. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.08.031>
- Ebrahiminezhad, A., Bagheri, M., Taghizadeh, SM, Berenjian, A. ve Ghasemi, Y. (2016). Biomimetic synthesis of silver nanoparticles using microalgal secretory carbohydrates as a novel anticancer and antimicrobial. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience And Nanotechnology*, 7(1), 015018. <https://doi.org/10.1088/2043-6262/7/1/015018>
- Ebrahiminezhad, A., Zare-Hoseinabadi, A., Sarmah, A. K., Taghizadeh, S., Ghasemi, Y. ve Berenjian, A. (2018). Plant-mediated synthesis and applications of iron nanoparticles. *Molecular Biotechnology*, 60(2), 154-168. <https://doi.org/10.1007/s12033-017-0053-4>
- Eraslan, T. (2020). *Daphne Oleoidesden Sentezlenen Gümüş Nanopartiküllerin Antioksidan Aktivitesinin Değerlendirilmesi*. Yayımlanmamış yüksek lisans tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi, Konya.
- Eren, A ve Baran, M. F. (2019). Fıstık (*Pistacia vera* L.) yaprağından gümüş nanopartikül (AgNP)'lerin sentezi, karakterizasyonu ve antimikrobiyal aktivitesinin incelenmesi. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 6(2), 165-173. <https://doi.org/10.19159/tutad.493006>
- Evliyaoğulları, N. E. (2019). *Bitki özütü kullanılarak sentezlenmiş nanoparçacıkların sulardan ağır metal gideriminde kullanımı*. Yayımlanmamış yüksek lisans tezi, Konya Teknik Üniversitesi, Konya.
- Fair, R. J. ve Tor, Y. (2014). Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. *Perspectives In Medicinal Chemistry*, 6, PMC-S14459.
- Fico, G., Bilia, A. R., Morelli, I. ve Tomè, F. (2000). Flavonoid distribution in *Pyracantha coccinea* plants at different growth phases. *Biochemical Systematics And Ecology*, 28(7), 673-678. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(99\)00109-X](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(99)00109-X)
- Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G. ve Scheffer, J. J. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour And Fragrance Journal*, 23(4), 213-226. <https://doi.org/10.1002/ffj.1875>
- Firuzi, O., Lacanna, A., Petrucci, R., Marrosu, G. ve Saso, L. (2005). Evaluation of the antioxidant activity of flavonoids by “ferric reducing antioxidant power” assay

- and cyclic voltammetry. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1721(1-3), 174-184. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2004.11.001>
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J. ve Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles. *Materials*, 14(15), 4135.
- Foster, T. J. (2002). Staphylococcus aureus. *Molecular Medical Microbiology*, 839-888. <https://doi.org/10.1016/B978-012677530-3/50258-0>
- Fu, L., Xu, B. T., Xu, X. R., Qin, X. S., Gan, R. Y. ve Li, H. B. (2010). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 56 wild fruits from South China. *Molecules*, 15(12), 8602-8617. <https://doi.org/10.3390/molecules15128602>
- Gedikli, H. (2022). *Türk siyah ve yeşil çayı ekstraktlarının ve bu ekstraktlardan yeşil sentez yoluyla üretilen demir nano parçacıklarının bazı gıdalarda aflatoksinlerin azaltılması üzerine bir araştırma*. Yayımlanmamış yüksek lisans tezi, Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gümüşhane.
- Gottimukkala, K. S. V., Harika, R. P. ve Zamare, D. (2017). Green synthesis of iron nanoparticles using green tea leaves extract. *Journal Of Nanomedicine And Biotherapeutic Discovery*, 7,1000151. <https://doi.org/10.4172/2155-983X.1000151>
- Gull, A., Lone, A.A. ve Wani, N. U. I. (2019). *Biotic and abiotic stresses in plants*. In: *Abiotic and Biotic Stress in Plants*. London, UK: IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85832>
- Gül, E. N. ve Altuntaş, E. (2021). Ateş dikenı meyvesinin bazı biyo-teknolojik özelliklerinin belirlenmesi. *Akademik Ziraat Dergisi*, 10(2), 291-304. <https://doi.org/10.29278/azd.922702>
- Gül, M., Şensoy, A., Çetin, B., Korkmaz, F. ve Seber, E. (2004). Hastane infeksiyonu etkeni Pseudomonas aeruginosa suşlarında seftazidime duyarlılığın E-test ve disk difüzyon yöntemleri ile araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Dergisi*, 34(1), 33-6.
- Harborne, J.B. (1973). *Fenolik bileşikler. Fitokimyasal yöntemlerde* (s . 33-88). Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-009-5921-7_2
- He, Y. X., Ye, C. L., Zhang, P., Li, Q., Park, C. G., Yang, K., ... ve Chen, T. (2019). Yersinia pseudotuberculosis exploits CD209 receptors for promoting host dissemination and infection. *Infection And Immunity*, 87(1), e00654-18. <https://doi.org/10.1128/IAI.00654-18>
- Herlekar, M., Barve, S. ve Kumar, R. (2014). Plant-mediated green synthesis of iron nanoparticles. *Journal Of Nanoparticles*, 140619, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2014/140614>

- Huq, M. A., Ashrafudoulla, M., Rahman, M. M., Balusamy, S. R. ve Akter, S. (2022). Green synthesis and potential antibacterial applications of bioactive silver nanoparticles: A review. *Polymers*, 14(4), 742. <https://doi.org/10.3390/polym14040742>
- Isah, T. (2019). Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biological Research*, 52, 1-25. <http://dx.doi.org/10.1186/s40659-019-0246-3>
- Kaabipour, S. ve Hemmati, S. (2021). A review on the green and sustainable synthesis of silver nanoparticles and one-dimensional silver nanostructures. *Beilstein Journal Of Nanotechnology*, 12(1), 102-136. <https://doi.org/10.3762/bjnano.12.9>
- Kabera, J. N, Semana, E., Musa, AR ve He, X. (Der.). (2014). *Bitki sekonder metabolitleri: biyosentez, sınıflandırma, işlev ve farmakolojik özellikler*. J. Ecz. Pharmacol , 2 (7), 377-392.
- Kaper, J. B., Nataro, J. P. ve Mobley, H. L. (2004). Pathogenic escherichia coli. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 123-140. <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>
- Karabulut, H. ve Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *Veterinary Journal Of Mehmet Akif Ersoy University*, 1(1), 65-76. <https://doi.org/10.24880/maeuofd.260790>
- Karak, P. (2019). *Biological activities of flavonoids: an overview*. Int. J. Pharm. Sci. Res, 10(4), 1567-1574. [http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.10\(4\).1567-74](http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.10(4).1567-74)
- Karakurt, S. (2019). *Halopteris scoparia (Phaeophyta) Ekstraktı İle Gümüş Nanopartikül Sentezlenmesi-Karakterizasyonu ve Patojenik*. In V. *International Congress On Natural And Health Sciences (ICNHS-2019)*.
- Kasangana, P. B., Haddad, P. S. ve Stevanovic, T. (2015). Study of polyphenol content and antioxidant capacity of myrianthus arboreus (cecropiaceae) root bark extracts. *Antioxidants (Basel)*, 4(2), 410–426. <https://doi.org/10.3390/antiox4020410>
- Kaska, A., Deniz, N., Çiçek, M. ve Mammadov, R. (2018). Evaluation of antioxidant properties, phenolic compounds, anthelmintic, and cytotoxic activities of various extracts isolated from Nepeta cadmea: an endemic plant for Turkey. *Journal Of Food Science*, 83(6), 1552-1559. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14167>
- Kasnak, C. ve Palamutoğlu, R. (2015). Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri. *Türk Tarım-Gıda Bilim Ve Teknoloji Dergisi*, 3(5), 226-234. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v3i5.226-234.171>
- Kerasioti, E., Apostolou, A., Kafantaris, I., Chronis, K., Kokka, E., Dimitriadou, C., ... ve Stagos, D. (2019). Polyphenolic composition of Rosa canina, Rosa sempervivens and Pyrocantha coccinea extracts and assessment of their

- antioxidant activity in human endothelial cells. *Antioxidants*, 8(4), 92.
<https://doi.org/10.3390/antiox8040092>
- Keser, S. (2014). Antiradical activities and phytochemical compounds of firethorn (*Pyracantha coccinea*) fruit extracts. *Natural Product Research*, 28(20), 1789-1794. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.942304>
- Kharat, S. N. ve Mendhulkar, V. D. (2016). Synthesis, characterization and studies on antioxidant activity of silver nanoparticles using *Elephantopus scaber* leaf extract. *Materials Science And Engineering: C*, 62, 719-724.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.02.024>
- KishanRaj, S., Sumitha, S., Tang, T. H., Citartan, M. ve Chinni, S. V. (2021). Comparative genomic identification and characterization of npcRNA homologs in *Proteus vulgaris*. *Journal Of Biosciences*, 46(4), 1-10.
<https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-40>
- Kopylova, T. (2019). The history of the *Pyraeantha* M. Roem genus study. *Journal Of Native And Alien Plant Studies*, (15), 50-57.
<https://doi.org/10.37555/15.2019.184889>
- Kumar, S. ve Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*, 2013.
<https://doi.org/10.1155/2013/162750>
- Küçük, H. D. (2020). *Gül yaprağı ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin incelenmesi*. Yayımlanmamış yüksek lisans tezi, Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli.
- Lamagni, T. L., Darenberg, J., Luca-Harari, B., Siljander, T., Efstratiou, A., Henriques-Normark, B., ... ve Jasir, A. (2008). Epidemiology of severe *Streptococcus pyogenes* disease in Europe. *Journal Of Clinical Microbiology*, 46(7), 2359-2367.
<https://doi.org/10.1128/JCM.00422-08>
- Lampropoulos, P. K., Gkentzi, D., Tzifas, S. ve Dimitriou, G. (2021). Neonatal Sepsis Due to *Bacillus subtilis*. *Cureus*, 13(9). <https://doi.org/10.7759/cureus.17692>
- Machado, S., Grosso, J. P., Nouws, H. P. A., Albergaria, J. T. ve Delerue-Matos, C. (2014). Utilization of food industry wastes for the production of zero-valent iron nanoparticles. *Science Of The Total Environment*, 496, 233-240.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.07.058>
- Machado, S., Pacheco, J. G., Nouws, H. P. A., Albergaria, J. T. ve Delerue-Matos, C. (2015). Characterization of green zero-valent iron nanoparticles produced with

- tree leaf extracts. *Science Of The Total Environment*, 533, 76-81. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.091>
- Mahendiran, D., Subash, G., Arumai Selvan, D., Rehana, D., Senthil Kumar, R. ve Kalilur Rahiman, A. (2017). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using plant extracts of Aloe vera and Hibiscus sabdariffa: phytochemical, antibacterial, antioxidant and anti-proliferative studies. *Bio Nano Science*, 7(3), 530-545. <https://doi.org/10.1007/s12668-017-0418-y>
- Meral, R. (2016). Isıl İşlemin Fenolik Bileşenler Üzerine Etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 21(1), 55-67.
- Michel-Briand, Y. ve Baysse, C. (2002). The pyocins of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochimie*, 84(5-6), 499-510. [https://doi.org/10.1016/S0300-9084\(02\)01422-0](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(02)01422-0)
- Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V. ve Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science* (London, England: 1979), 84(4), 407-412. <https://doi.org/10.1042/cs0840407>
- Mishra, K., Ojha, H. ve Chaudhury, N. K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry*, 130(4), 1036-1043. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.127>
- Mittal, A. K., Kaler, A. ve Banerjee, U. C. (2012). Free Radical Scavenging and Antioxidant Activity of Silver Nanoparticles Synthesized from Flower Extract of *Rhododendron dauricum*. *Nano Biomedicine & Engineering*, 4(3). <https://doi.org/10.5101/nbe.v4i3.p118-124>.
- Mohanpuria, P., Rana, N. K. ve Yadav, S. K. (2008). Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. *Journal Of Nanoparticle Research*, 10(3), 507-517. <https://doi.org/10.1007/s11051-007-9275-x>
- Mordi, R. M. ve Momoh, M. I. (2009). Incidence of *Proteus* species in wound infections and their sensitivity pattern in the University of Benin Teaching Hospital. *African Journal Of Biotechnology*, 8(5).
- Motarjemi, Y., Moy, G. ve Todd, E. (Eds.). (2013). Encyclopedia of food safety. *Academic Press*.
- Nataro, J. P. ve Kaper, J. B. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(1), 142-201. <https://doi.org/10.1128/CMR.11.1.142>
- Naz, K., Ullah, N., Zaheer, T., Shehroz, M., Naz, A. ve Ali, A. (2020). Pan-genomics of model bacteria and their outcomes. In *Pan-genomics: Applications, Challenges,*

- and Future Prospects (pp. 189-201). *Academic Press*.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817076-2.00009-3>
- Njagi, E. C., Huang, H., Stafford, L., Genuino, H., Galindo, H. M., Collins, J. B., ... ve Suib, S. L. (2011). Biosynthesis of iron and silver nanoparticles at room temperature using aqueous sorghum bran extracts. *Langmuir*, 27(1), 264-271.
<https://doi.org/10.1021/la103190n>
- Oggioni, M. R., Pozzi, G., Valensin, P. E., Galieni, P. ve Bigazzi, C. (1998). Recurrent septicemia in an immunocompromised patient due to probiotic strains of *Bacillus subtilis*. *Journal Of Clinical Microbiology*, 36(1), 325-326.
<https://doi.org/10.1128/jcm.36.1.325-326.1998>
- Okan, O. T., Varlıbaş, H., Mehmet, Ö. Z. ve Deniz, İ. (2013). Antioksidan analiz yöntemleri ve doğu karadeniz bölgesinde antioksidan kaynağı olarak kullanılabilecek odun dışı bazı bitkisel ürünler. *Kastamonu University Journal Of Forestry Faculty*, 13(1), 48-59.
- Omerovic, M., Müştak, H. K. ve Kaya, İ. B. (2017). *Escherichia coli* Patotiplerinin Virülens Faktörleri. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 28(1), 1-6.
<https://doi.org/10.35864/evmd.530084>
- Otto, M. (2014). *Staphylococcus aureus* toxins. *Current Opinion in Microbiology*, 17, 32-37. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.11.004>
- Pagare, S., Bhatia, M., Tripathi, N., Pagare, S. ve Bansal, Y. K., (2015). Secondary metabolites of plants and their role: Overview. *Current Trends In Biotechnology And Pharmacy*, 9(3), 293-304.
- Paiva, P. M., Gomes, F. S., Napoleão, T. H., Sá, R. A., Correia, M. T. S. ve Coelho, L. C. B. B. (2010). Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants. *Current Research, Technology And Education Topics In Applied Microbiology And Microbial Biotechnology*, 1(2), 396-406.
- Pal, R. S., Kumar, R. A., Agrawal, P. K. ve Bhatt, J. C. (2013). Antioxidant capacity and related phytochemicals analysis of methanolic extract of two wild edible fruits from north western Indian Himalaya. *Int J Pharm Bio Sci*, 4(2), 113-123.
[https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(15\)60951-3](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(15)60951-3)
- Panche, A. N., Diwan, A. D. ve Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal Of Nutritional Science*, 5. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Parıldar, H. (2020). Tarihte bulaşıcı hastalık salgınları. *Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dergisi*, 30, 19-26. <https://doi.org/10.5222/terh.2020.93764>

- Pattanayak, M. ve Nayak, P. L. (2013). Green synthesis and characterization of zero valent iron nanoparticles from the leaf extract of *Azadirachta indica* (Neem). *World Journal Of Nano Science And Technology*, 2(1), 06-09. <https://doi.org/10.5829/idosi.wjnst.2013.2.1.21132>
- Pekal, A. ve Pyrzynska, K. (2014). Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods*, 7(9), 1776-1782. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9814-x>
- Possamai Rossatto, F. C., Tharmalingam, N., Escobar, I. E., d'Azevedo, P. A., Zimmer, K. R. ve Mylonakis, E. (2021). Antifungal Activity of the Phenolic Compounds Ellagic Acid (EA) and Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) against Drug-Resistant *Candida auris*. *Journal Of Fungi*, 7(9), 763. <https://doi.org/10.3390/jof7090763>
- Prieto, P., Pineda, M. ve Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269(2), 337-341. <https://doi.org/10.1006/abio.1999.4019>
- Qamer, S., Romli, M. H., Che-Hamzah, F., Misni, N., Joseph, N. M., Al-Haj, N. A. ve Amin-Nordin, S. (2021). Systematic Review on Biosynthesis of Silver Nanoparticles and Antibacterial Activities: Application and Theoretical Perspectives. *Molecules*, 26(16), 5057. <https://doi.org/10.3390/molecules26164961>
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. ve Rice E.C., (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radicale Biology And Medicine*. 26: 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rehana, D., Mahendiran, D., Kumar, R. S. ve Rahiman, A. K. (2017). Evaluation of antioxidant and anticancer activity of copper oxide nanoparticles synthesized using medicinally important plant extracts. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 89, 1067-1077. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.02.101>
- Rios, J. L. ve Recio, M. C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal Of Ethnopharmacology*, 100(1-2), 80-84. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.025>
- Rosli, N. A., Teow, Y. H. ve Mahmoudi, E. (2021). Current approaches for the exploration of antimicrobial activities of nanoparticles. *Science And Technology Of Advanced Materials*, 22(1), 885-907. <https://doi.org/10.1080/14686996.2021.1978801>

- Saklani, S., Chandra, S. ve Mishra, A. P. (2011). Evaluation of antioxidant activity, quantitative estimation of phenols, anthocynins and flavonoids of wild edible fruits of Garhwal Himalaya. *Journal Of Pharmacy Research*, 4(11), 4083-4086.
- Sarikurkcü, C. ve Tepe, B. (2015). Biological activity and phytochemistry of firethorn (*Pyracantha coccinea* MJ Roemer). *Journal Of Functional Foods*, 19, 669-675. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.10.004>
- Sharifi-Rad, J., Song, S., Ali, A., Subbiah, V., Taheri, Y. ve Suleria, H. A. (2021). LC-ESI-QTOF-MS/MS characterization of phenolic compounds from *Pyracantha coccinea* M. Roem. and their antioxidant capacity. *Cellular And Molecular Biology*, 67(1), 201-211. <https://doi.org/10.14715/cmb/2021.67.1.29>
- Sharma, O. P. ve Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*, 113(4), 1202-1205. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.008>
- Simonetti, G., Brasili, E. ve Pasqua, G. (2020). Antifungal activity of phenolic and polyphenolic compounds from different matrices of *Vitis vinifera* L. against human pathogens. *Molecules*, 25(16), 3748. <https://doi.org/10.3390/molecules25163748>
- Slinkard, K. ve Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal Of Enology And Viticulture*, 28, 49–55. <https://doi.org/10.5344/ajev.1974.28.1.49>
- Stozhko, N. Y., Bukharinova, M. A., Khamzina, E. I., Tarasov, A. V., Vidrevich, M. B. ve Brainina, K. Z. (2019). The effect of the antioxidant activity of plant extracts on the properties of gold nanoparticles. *Nanomaterials*, 9(12), 1655. <https://doi.org/10.3390/nano9121655>
- Sweany, H. C. ve Pinner, M. (1925). A pathogenic subtilis bacillus from a patient with chronic tuberculosis. *The Journal Of Infectious Diseases*, 340-343.
- Taylor, T. A. ve Unakal, C. G. (2022). *Staphylococcus aureus*. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.
- Thirumurugan, D., Cholarajan, A., Raja, S. S. ve Vijayakumar, R. (2018). An introductory chapter: secondary metabolites. *Secondary Metabolites-Sources And Applications*, 3-21.
- Tunç, K., Semerci, A. B. ve Okur, İ. (2020). Antioxidant activity of the fruits of *Pyracantha coccinea* using ethanolic extract method. *Food And Health*, 6(1), 35-40. <https://doi.org/10.3153/FH20005>
- Turgut, E. (2019) *Kitosan, nanopartikül ve ayçiçeği bitkisi temelli yeni biyosorbent malzeme üretilmesi ve boya giderme amacıyla kullanılabilirliğinin araştırılması*,

- Yayınlanmamış yüksek lisans tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Turu, D., Bozyel, M. E., Candan, K., Yakan, M. A., Benek, A. ve Canli, K. (2020). In vitro antimicrobial and antioxidant activities of *Pyracantha coccinea* fruits ethanol extract. *vitro, Laboratuvar* , 4, 89-93.
- Tübives. (2022). Turkish Plants Data Service. 17 Aralık 2022 tarihinde http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=3778 adresinden erişildi.
- Umaz, A. Koç, A. Baran, M. F., Keskin, C. ve Atalar, M. N. (2019). Hypericum Triquetrifolium Turra Bitkisinden Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antimikrobial Etkinliğinin İncelenmesi. *Journal Of The Institute Of Science And Technology*, 9(3), 1467-1475. <https://doi.org/10.21597/jist.533115>
- Unal, N., Bakirhan, N. K., Yucel, C. ve Savluk, M. (2022). Antimicrobial effective nanoparticles: Mechanisms and recent achievements. *Medicine*, 11(2), 905-13.
- Üçüncü, O., Baltacı, C., Akar, Z., Duzgun, A., Cuce, M. ve Kandemir, A. (2020). Biological activities and phytochemical screening of ethanol extracts from *Adonis paryadrica* (Ranunculaceae). *Farmacia*, 68(6). <https://doi.org/10.31925/farmacia.2020.6.13>
- Üstün, E., Önbaş, S. C., Çelik, S. K., Ayvaz, M. Ç. ve Şahin, N. (2022). Green synthesis of iron oxide nanoparticles by using *Ficus carica* leaf extract and its antioxidant activity. *Biointerface Res. Appl. Chem*, 2021, 2108-2116. <https://doi.org/10.33263/BRIAC122.21082116>
- Valgimigli, L., Baschieri, A. ve Amorati, R. (2018). Antioxidant activity of nanomaterials. *Journal Of Materials Chemistry B*, 6(14), 2036-2051. <https://doi.org/10.1039/C8TB00107C>
- Vashist, H. ve Jindal, A. (2012). Antimicrobial activities of medicinal plants–Review. *Int J Res Pharm Biomed Sci*, 3(1), 222-30.
- Vega-Jiménez, A. L., Vázquez-Olmos, A. R., Acosta-Gío, E. ve Álvarez-Pérez, M. A. (2019). In vitro antimicrobial activity evaluation of metal oxide nanoparticles. *Nanoemulsions Prop. Fabr. Appl*, 1-18.
- Velioğlu, S. (2000). Doğal antioksidanların insan sağlığına etkileri. *Gıda*, 25(3).
- Vitta, Y., Figueroa, M., Calderon, M. ve Ciangherotti, C. (2020). Synthesis of iron nanoparticles from aqueous extract of *Eucalyptus robusta* Sm and evaluation of

- antioxidant and antimicrobial activity. *Materials Science For Energy Technologies*, 3, 97-103. <https://doi.org/10.1016/j.mset.2019.10.014>
- Wang, L., Hu, C. ve Shao, L. (2017). The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *International Journal Of Nanomedicine*, 12, 1227. <https://doi.org/10.2147/IJN.S121956>
- Wang, T., Jin, X., Chen, Z., Megharaj, M., ve Naidu, R. (2014a). Green synthesis of Fe nanoparticles using eucalyptus leaf extracts for treatment of eutrophic wastewater. *Science Of The Total Environment*, 466, 210-213. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.07.022>
- Wang, T., Lin, J., Chen, Z., Megharaj, M. ve Naidu, R. (2014b). Green synthesized iron nanoparticles by green tea and eucalyptus leaves extracts used for removal of nitrate in aqueous solution. *Journal Of Cleaner Production*, 83, 413-419. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.07.006>
- Yavaşer, R. (2011). *Doğal ve sentetik antioksidan bileşiklerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması*. Yayınlanmamış yüksek lisans tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Yılmaz, İ. (2010). Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres. *Journal Of Turgut Ozal Medical Center*, 17(2), 143-154.
- Yogesh, K., Jha, S. N. ve Ahmad, T. (2014). Antioxidant potential of aqueous extract of some food grain powder in meat model system. *Journal Of Food Science And Technology*, 51(11), 3446-3451. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0804-y>
- Yusefi, M., Shameli, K., Rasit, A.R., Pang, S.W. ve Teow S.Y. (2020). Evaluating Anticancer Activity of Plant-Mediated Synthesized Iron Oxide Nanoparticles Using Punica Granatum Fruit Peel Extract. *Journal Of Molecular Structure*, 1204(127539), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.127539>
- Zehra, A., Choudhary, S., Naeem, M., Masroor, A., Khan, M. ve Aftab, T. (2019). A review of medicinal and aromatic plants and their secondary metabolites status under abiotic stress. *Journal Of Medicinal Plants Studies*, 7(3), 99-106.

ÖZGEÇMİŞ

Volkan KARAKULLUKÇU, Lise eğitime 2002 yılında Gümüşhane Lisesi'nde başlayıp, 2005 yılında tamamlamıştır. Lisans eğitimini Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Mühendisliği'nde 2012 yılında tamamladı. Torul Tarım ve Orman Müdürlüğü'nde Su Ürünleri Mühendisi olarak 2016 yılından itibaren çalışmaktadır ve halen bu görevine devam etmektedir. 2019 yılında başladığı Gümüşhane Üniversitesi, Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı'ndaki Yüksek Lisans eğitimine halen devam etmektedir. Volkan KARAKULLUKÇU evli ve iki çocuk babasıdır.

